

**EINFLUSS VERSCHIEDENER CYCLISCHER
NUCLEOTIDE AUF DIE
FUNKTION DER RATTENNIERE IN VIVO**

Hanspeter Weppeler

1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München

Direktor: Professor Dr. E. Buchborn

EINFLUSS VERSCHIEDENER CYCLISCHER NUCLEOTIDE
AUF DIE FUNKTION DER RATTENNIERE
IN VIVO

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Hanspeter Weppler
aus Leverkusen

München 1974

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

1. Berichterstatter: Prof. Dr. J. Eigler
2. Berichterstatter: Prof. Dr. E. Buchborn
Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 10.9.1974

Meinen Eltern





INHALTSÜBERSICHT

	Seite
I) Einleitung	1
II) Literaturübersicht	
1) Entdeckung, Bedeutung und Wirkungen von c - AMP	3
2) Nachweis und Wirkungen von c - GMP	7
3) Wirkungen anderer cyclischer Nucleotide	10
III) Methodik	
1) Versuchstiere	12
2) Versuchsaufbau	12
3) Verwendete Substanzen	13
4) Gemessene Parameter	15
5) Einteilung der Versuchsgruppen	17
6) Berechnung	18
IV) Ergebnisse	
1) Einfluß cyclischer Nucleotide auf die Nierenfunktion von Wistar-Ratten	
A) Kontrollgruppe	20
B) DB - c - AMP mit Dosiswirkungsbeziehung	20
C) Andere cyclische Nucleotide	25
2) Einfluß cyclischer Nucleotide auf die Nierenfunktion von D.i.-Ratten	
A) DB - c - AMP	27
B) C - CMP	28
3) Theophyllin + DB - c - AMP	28
4) Blutdruck-, Blutzucker- und Clearancemessung	29

V) Diskussion	
1) Methode	31
2) Ergebnisse	
A) c - AMP	34
B) c - GMP	40
C) Andere cyclische Nucleotide	43
VI) Zusammenfassung	45
VII) Literaturverzeichnis	48

Der tierexperimentelle Teil dieser Arbeit wurde im Jahr 1969 durchgeführt; die Zusammenstellung und Ausarbeitung dieser Arbeit erfolgte 1972.

H.P. Weppler

I) Einleitung

Hormone sind körpereigene, organische Stoffe mit spezifischen Wirkungen; sie werden in aller Regel in endokrinen Drüsen gebildet und dienen der interzellulären Informationsübertragung.

Am Erfolgsorgan finden sich hochspezifische Rezeptoren für das jeweilige Hormon; die molekularen Mechanismen der Hormon-Rezeptor-Bindung sind bereits in ersten Einzelaspekten definiert worden.

Sutherland und Mitarbeiter fanden bei der Wirkung von Glukagon und Adrenalin in der Leber eine zwischengeschaltete intrazelluläre Überträgersubstanz. Diese Entdeckung ergab entscheidende Einblicke in die hierbei zugrundeliegenden biochemischen Vorgänge. Die gefundene Überträgersubstanz konnte später als das cyclische Adenosin - 3': 5'- monophosphat (c - AMP) identifiziert werden. Die Rolle des c - AMP bei der Vermittlung von Hormonwirkungen wurde von Sutherland in der sogenannten "second messenger" Hypothese beschrieben.

Seit diesen ersten Beschreibungen sind viele Wirkungen des c - AMP nachgewiesen worden. In den letzten Jahren wurde die Vermutung bestätigt, daß zahlreiche Hormonwirkungen durch dieses cyclische Nucleotid vermittelt werden, z.B. die Wirkung von antidiuretischem Hormon (ADH).

Es wurden Derivate des c - AMP synthetisiert; von diesen ist das cyclische N⁶- 2'- O Dibutyryl-adenosin - 3': 5'- monophosphat (DB - c - AMP) in der experimentellen Biologie am besten untersucht.

In letzter Zeit haben einige weitere cyclische Nucleotide Bedeutung erlangt, darunter besonders das cyclische Guanosin - 3': 5'- monophosphat (c - GMP), das als möglicher weiterer "second messenger" bei Hormonwirkungen wichtig sein könnte.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den Effekt verschiedener cyclischer Nucleotide auf die Nierenfunktion am intakten Säugetierorganismus zu untersuchen.

Hierbei fand sich nach Gabe von DB - c - AMP eine ausgeprägte Antidiurese mit Zunahme der Urinosmolarität und der Natrium- und Kaliumkonzentration im Urin, ein der ADH-Wirkung vergleichbarer Befund. C - GMP verursachte ähnliche Effekte; cyclisches Uridin - 3': 5'- monophosphat (c - UMP), cyclisches Cytidin - 3': 5'- monophosphat (c - CMP) und cyclisches Inosin - 3': 5'- monophosphat (c - IMP) zeigten dagegen keine wesentliche Änderung der gemessenen Parameter.

Die vorgelegten Ergebnisse könnten die Annahme von Orloff und Handler stützen, daß c - AMP nicht die alleinige Vermittlersubstanz von Hormonwirkungen in der Niere ist.

II. Literaturübersicht

1. Entdeckung, Bedeutung und Wirkungen von c - AMP

Das cyclische Nucleotid c - AMP wurde in den Jahren 1956 bis 1958 unabhängig voneinander von Sutherland und Rall (40, 45) sowie Lipkin et al. (30) entdeckt. Seine biologische Bedeutung wurde offenkundig, als es als intrazellulärer Mediator des glykogenolytischen Effektes von Adrenalin und Glukagon im Lebergewebe erkannt wurde (40, 46). Eine große Zahl verschiedenster Effekte und Wirkungen des c - AMP sind in der Folgezeit beschrieben worden; die bekanntesten sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Kommt dem c - AMP eine Bedeutung bei verschiedenen Hormonwirkungen zu, so sollte sich in den jeweiligen Erfolgsorganen eine Erhöhung des Gehaltes an c - AMP nachweisen lassen. In einer Reihe von Experimenten ist dieser Nachweis gelungen (41, 48, 49).

Einige der von c - AMP vermittelten Hormonwirkungen sind in der Tabelle 2 zusammengestellt.

Die allgemeine Bedeutung des c - AMP bei der Transformation einer hormonvermittelten Information in eine Antwort des entsprechenden Erfolgsorganes, eines Gewebes etc. formulierten Sutherland und Mitarbeiter in der "second messenger" Hypothese (41, 46, 47, 48).

Tabelle 1

Zelluläre Vorgänge, die durch c - AMP gesteuert werden (nach 41, 47)

a) Steigerung der Aktivität von:

Phosphorylase

Phosphofruktokinase

b) Stimulation von:

Steroidsynthese

Lipolyse

Glukoseoxydation

Glukoneogenese

Harnstoffbildung

Ketonkörperbildung

c) Erhöhung von:

Wasserpermeabilität (Niere)

Amylasesekretion

TSH-Sekretion

Insulinsekretion

Salzsäuresekretion

d) Hemmung von:

Glykogensynthetase

Fruktose-1-6-Diphosphatase

Proteinsynthese (Leber)

Fettsynthese

Tabelle 2

Durch c - AMP vermittelte Hormonwirkungen (nach 43)

Gewebe	Hormon	Wirkung: Steigerung von
Leber	Glukagon, Katecholamine	Glykogenolyse, Glukoneogenese
Skelettmuskulatur	Katecholamine	Glykogenolyse
Herzmuskulatur	Katecholamine	Kontraktionskraft
Fettgewebe	Katecholamine, Glukagon ACTH, Sekretin	Lipolyse
Nebennierenrinde	ACTH	Glukokortikoidsynthese
Corpus luteum bzw. Testes	Luteinisierendes Hormon bzw. ICSH	Progesteron- bzw. Androgensynthese
Schilddrüse	TSH	Schilddrüsenhormonsynthese
Niere: distaler Tub., Sammelrohr	Antidiuretisches Hormon	Wasserpermeabilität
prox. Tub.	Parathormon	Phosphatausscheidung
Knochen	Parathormon	Calciummobilisierung
B-Zellen des Pankreas	Glukagon, wahrscheinl. Pankreozymin, Sekretin	Insulinabgabe

- 5 -

An isolierten Amphibienmembranen, die als Modell für Transportvorgänge am distalen Tubulusepithel der Nieren dienen können, ist nachgewiesen worden, daß c - AMP den Natriumtransport und den Nettowasserfluß steigert (7, 20, 34, 35, 36). Es zeigte sich, daß es der Vasopressin-Wirkung gleichgerichtete Effekte hervorruft und daß der Vasopressin-Effekt offensichtlich erst durch intrazelluläre Bildung von c - AMP vermittelt wird (20, 34, 35, 36, 48).

In ähnlicher Weise sind Experimente an isolierten Nierentubuli von Kaninchen zu deuten, in denen c - AMP die Vasopressin-Wirkung nachzuahmen scheint (18, 19). Am Menschen fand Levine nach intravenöser Gabe von c - AMP eine Antidiurese (28). Dies konnte später in eingehenderen Experimenten am Kaninchen bestätigt werden (5). Andere Autoren fanden nach c - AMP beim Hund eine gesteigerte Natrium- bzw. Kaliumausscheidung im Urin (1, 15, 31).

Alle diese Befunde könnten die Annahme bestätigen, daß dem c - AMP eine Schlüsselrolle bei der Regulation der Nierenfunktion, insbesondere der ADH-vermittelten konzentrativen Nierenleistung, zukommt (12, 36).

DB - c - AMP zeigt im wesentlichen die gleichen Effekte wie c - AMP; die weitaus höhere Wirksamkeit des DB - c - AMP mag durch eine bessere Penetrationsfähigkeit in die Zelle infolge erhöhter

Lipidabbaufähigkeit oder durch eine erhöhte Resistenz gegen den hydrolytischen Abbau durch das Enzym Phosphodiesterase erklärbar sein (16, 25, 38, 49).

2. Nachweis und Wirkungen von c - GMP

Von den dem c - AMP chemisch ähnlichen Substanzen ist bisher nur das c - GMP in biologischen Flüssigkeiten und Geweben gefunden worden.

In jüngster Zeit konnte neben c - AMP auch c - GMP im Harn und im Nierengewebe verschiedener Säugetiere nachgewiesen werden (3, 17, 23, 26, 39).

Außerdem wurde in Analogie zu Bildung und Abbau des c - AMP eine Guanylcyclase, die die Bildung des c - GMP aus GTP katalysiert (6, 22, 26, 52) und eine 3': 5'- Phosphodiesterase, die den Abbau zu 5'- GMP bewirkt (17, 33) beschrieben.

Allgemeine und Stoffwechsel-Wirkungen von c - GMP

Die Untersuchungsergebnisse über die Wirkungen des c - GMP sind nicht einheitlich: so findet man z.B. kein Effekt des c - GMP auf die Glykogenolyse (29) und auf die Glukoneogenese (37). Unter anderen Versuchsbedingungen ist eine dem c - AMP gleichgerichtete Steigerung der Glykogenolyse (9, 11, 16) und der Glukoneogenese (9, 11, 16)

durch c - GMP sowie eine Hemmung der Fettsäuresynthese in der Leber (9) nachweisbar.

Ebenso wie c - AMP hat c - GMP einen stimulierenden Effekt auf die Thymozytenproliferation (53); in der Nebenniere wird die Steroidproduktion durch c - GMP erhöht (16, 51). Im Herzen konnte eine Änderung der c - GMP - Konzentration unter der Einwirkung von Acetylcholin (Konzentrationsanstieg) und Isoproterenol (Konzentrationsabfall) nachgewiesen werden (14).

Der Einfluß von c - GMP auf weitere Stoffwechselvorgänge ist wahrscheinlich, die Mechanismen im einzelnen noch unbekannt (14, 39). Möglicherweise ist es wie c - AMP als "second messenger" in die Vermittlung hormonaler Wirkung eingeschaltet und hat dadurch seine Bedeutung (3, 6, 11, 14, 16, 22, 24, 49, 52). Für diese Annahme spricht, daß nach Entfernung der Hypophyse, der Schilddrüse oder der Nebennieren die c - GMP - Ausscheidung im Urin stark abnimmt und bei Substitution durch Thyroxin und Hydrocortison wieder auf die Ausgangswerte ansteigt (23).

C - GMP und c - AMP

Der Nachweis veränderter c - AMP - Spiegel nach Einwirkung von c - GMP führt zu der allerdings nicht unwidersprochen gebliebenen Hypothese, daß die c - GMP - Wirkung durch c - AMP vermittelt sei (9, 16, 53).

Ein gegensätzliches Verhalten von c - AMP und c - GMP wurde kürzlich bei in vitro-Versuchen nachgewiesen: die Freisetzung von Wachstumshormon aus Hypophysen von weiblichen Ratten wurde lediglich durch c - GMP, nicht durch c - AMP stimuliert; Hypophysen männlicher Tiere zeigten das entgegengesetzte Verhalten: erhöhte Freisetzung von Wachstumshormon durch c - AMP, kein Einfluß durch c - GMP (10).

Wirkung von c - GMP an biologischen Membranen und Niere

An der isolierten Krötenblase konnte gezeigt werden, daß c - GMP wie c - AMP den Natriumtransport steigert, ohne jedoch (im Gegensatz zum c - AMP) die Wasserpermeabilität zu beeinflussen (7).

Über mögliche physiologische oder pharmakologische Effekte von c - GMP auf die Nierenfunktion liegen nur wenige Beobachtungen vor. C - GMP und eine spezifische Guanylcyclase mit hoher Aktivität wurden im Nierengewebe von Ratten nachgewiesen (6, 17, 26, 52). Die Ausscheidung von c - GMP im Urin steht möglicherweise unter hormonellem Einfluß (23); Glukagon allerdings hatte keinen Effekt auf die c - GMP - Ausscheidung bei Ratte (23) und Mensch (8), ebenso wenig wie Calcitonin beim parathyreoidektomierten Menschen (32). Diese Ergebnisse wurden durch in

vitro-Versuche von Schultz bestätigt und ergänzt: nach Zugabe von Parathormon, Thyreocalcitonin, Vasopressin und Oxytocin keine Steigerung der c - GMP - Bildung bzw. der Guanylcyclaseaktivität im Nierengewebe der Ratte (44).

Beim Menschen ermittelten Murad et al. nach Gabe von 600 - 900 mg Koffein einen Anstieg der c - GMP - Exkretion im Urin um 30 % (32). Ähnliche Ergebnisse wurden von Goldberg et al. mitgeteilt: eine zweifache Erhöhung des c - GMP - Spiegels im Nierengewebe bei mit Theophyllin vorbehandelten Ratten (17). Die gleichen Autoren konnten beim Hund durch c - GMP - Injektion in die Nierenarterie eine ca. zehnminütige geringgradige Zunahme des Urinvolumens bei gleichzeitiger, längerdauernder Zunahme der Natriumexkretion nachweisen, die Kaliumausscheidung war nicht beeinflusst (17).

3. Wirkungen anderer cyclischer Nucleotide (c - UMP, c - IMP, c - CMP)

Über andere cyclische Nucleotide außer c - AMP und c - GMP liegen bisher nur sehr vereinzelte Beobachtungen vor. Der Nachweis dieser Derivate in biologischen Flüssigkeiten oder Geweben ist bis heute nicht gelungen. Dabei muß offenbleiben, ob sie in solch geringen Konzentrationen vorkommen, daß sie durch die heutigen zur Verfügung stehenden Methoden nicht erfaßt werden können (39). Hinweise dafür gibt es: am Hunde-

herzen konnte die Existenz einer Phosphodiesterase nachgewiesen werden, die c - UMP rascher spaltet als c - AMP (21, 33). Bekannt ist schließlich, daß c - IMP von einer relativ spezifischen Phosphodiesterase hydrolisiert wird (33).

Intravenös zugeführtes c - UMP und c - IMP bewirkt in der Rattennebenniere eine Steigerung der Steroidproduktion (51). Imura et al. konnten allerdings bei in vitro-Versuchen an der hypophysektomierten Ratte keine Wirkung von c - UMP auf den Kortikosterongehalt der Nebennierenvenen und auf die Nebennierendurchblutung feststellen (25). C - IMP, c - UMP und c - CMP haben einen insulinähnlichen Effekt auf die Glukoseoxydation isolierter Fettzellen (27). Eine Steigerung der Glukoneogenese konnte durch c - IMP erreicht werden; sie war jedoch nicht so stark ausgeprägt wie der durch c - AMP hervorgerufene Anstieg (37). Dieser Befund wurde von Levine bestätigt: starke glykogenolytische Aktivität von c - IMP an der perfundierten Rattenleber, kein Effekt von c - UMP und c - CMP (29).

An der isolierten Krötenblase bewirkt c - IMP eine dem c - AMP gleichgerichtete Änderung von Natriumtransport und Wasserpermeabilität (13). C - CMP und c - UMP haben an der Krötenblase keinen Effekt auf den Kurzschlußstrom und die Wasserpermeabilität (7, 50).

Untersuchungen über den Einfluß von c - UMP, c - CMP und c - IMP auf die Nierenfunktion liegen nicht vor.

III. Methodik

1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten männliche Wistar-Ratten vom Stamm "AF/Han/W 69" mit einem Gewicht von 170 bis 210 g sowie etwa 270 g schwere männliche und weibliche Ratten mit einem angeborenen Diabetes insipidus (D.i.-Ratten) vom Stamm Brattleboro. Die Tiere erhielten eine Standarddiät (Altromin^(R)) und hatten freien Zugang zu Leitungswasser.

2. Versuchsaufbau

Alle Tiere wurden durch intraperitoneale Inactin^(R) - Injektion (80 bzw. 60 mg/kg KG bei den D.i.-Ratten) narkotisiert und auf beheizten Operationstischen gelagert; die Körpertemperatur wurde durch eine rektale Thermosonde überwacht.

Nach Hautschnitt im ventralen mittleren Halsgebiet, Darstellung und Inzision der Trachea wurde eine Trachealkanüle gelegt und durch den Schlund eine Magensonde. In beiden Fällen wurden Polyäthylenschläuchlein mit einem äußeren Durchmesser von 2,5 - 3 mm verwandt.

Nach Präparation der rechten V. jugularis, Unterbindung des distalen Abschnittes und Inzision wurde ein feines Polyäthylenschläuchchen (Durchmesser ca. 1 mm) als Venenkatheter eingebunden.

Es diente zur Blutentnahme und zur Applikation der zu untersuchenden Substanzen. Zusätzlich wurde in einem Teil der Experimente die linke A. carotis interna aufgesucht und in den proximalen Abschnitt ein mit 0,9 %iger NaCl-Lösung gefüllter dünner Polyäthylenschlauch (Durchmesser ca. 0,5 - 1 mm) eingebunden und mit einem Statham-Element verbunden. Ein angeschlossenes Registriergerät (Physioskript Fa. Schwartz) diente zur Aufzeichnung von Blutdruck und Pulsfrequenz. Schließlich wurde nach einer kleinen suprapubischen Inzision die Harnblase freigelegt und ein dünn ausgezogener Polyäthylenkatheter eingebunden. Auf diese Weise konnten in den meisten Fällen in 5-Minuten-Abständen bei nur kleinem Totraum der Urinfluß bestimmt werden.

Durch Applikation von körperwarmem Wasser (4 ml/100 g KG x h) per Magensonde wurde eine Wasserdurese induziert, die sich innerhalb von 2 - 3 Stunden auf eine konstante Größe einregulierte. Auf diese Weise wurde eine Suppression der endogenen ADH-Sekretion erreicht. Die ausgeschiedene Flüssigkeitsmenge wurde halbstündlich bzw. durch eine Dauerinfusionspumpe (Unita Typ II, (Braun)) ersetzt.

3. Verwendete Substanzen

Alle cyclischen Nucleotide (Fa. Boehringer-Mannheim) wurden in 0,4 ml einer 0,9 %igen NaCl-Lösung gelöst; lediglich bei c - IMP wurde wegen der relativ schlechten Löslichkeit 0,8 ml der NaCl-Lösung benutzt.

Folgende cyclische Nucleosidphosphate wurden bei den Versuchen verwandt:

Cyclisches N⁶ - 2' - O - Dibutyryl-adenosin - 3': 5'- monophosphat (DB - c - AMP)

DB - c - AMP ist ein Dibutyryl-Derivat des physiologisch vorkommenden c - AMP. Es liegt als Mononatriumsalz mit dem Molekulargewicht 491.4 vor.

Cyclisches Guanosin - 3': 5'- monophosphat (c - GMP)

Das c - GMP hat als Mononatriumsalz ein Molekulargewicht von 367.2.

Cyclisches Uridin - 3': 5'- monophosphat (c - UMP)

Das c - UMP liegt ebenfalls als Mononatriumsalz vor und hat ein Molekulargewicht von 328.2.

Cyclisches Inosin - 3': 5'- monophosphat (c - IMP)

Das c - IMP liegt als kristallisierte freie Säure vor, Molekulargewicht 330.2.

Cyclisches Cytidin - 3': 5'- monophosphat (c - CMP)

Das c - CMP liegt als Mononatriumsalz mit einem Molekulargewicht von 327.2 vor.

C₁₄ - Inulin

C₁₄ - Inulin (Fa. Hoechst, Frankfurt/Main), ein radioaktiv markiertes Fruktosepolysaccharid, diente zur Clearancemessung. Es wurde in Lösung mit 0,9 %iger NaCl-Lösung (7 mg/10 ml) verwendet.

Theophyllin

Theophyllin ist ein Purinderivat und als Hemmer der Phosphodiesterase, die den Abbau des c - AMP aktiviert, bekannt. Benutzt wurde das Handelspräparat Euphyllin (R).

4. Gemessene Parameter

Als Ausgangswerte dienten die arithmetischen Mittelwerte von zwei Kontrollperioden (je 5 Minuten Dauer) nach Erreichen einer konstanten Wasserdiurese.

Bestimmt wurden:

- a) in allen Versuchsreihen Urinfluß/5 min.
 (angegeben als µl/min);
 Urinosmolalität (mosm/
 kg H₂O); Natrium- und
 Kaliumkonzentration im
 Urin (mval/l).

- | | |
|--|---|
| b) zusätzlich in einigen
Versuchsreihen | Blutzuckerspiegel (mg%);
Blutdruck (mm Hg);
Herzfrequenz. |
| c) in einer eigenen Ver-
suchsreihe | Inulin-clearance
(ml/min. x 100 g KG). |

Nach Versuchsbeginn erfolgte in 5-Minuten-Abständen die Messung der genannten Parameter über einen Zeitraum von 25 bis 50 Minuten. Die Blutzuckerkonzentration wurde 10 und 50 Minuten nach Applikation der cyclischen Nucleotide bestimmt.

Der aus dem Blasenkatheter spontan abfließende Urin wurde in graduierten Gläsern aufgefangen. Bei den hier gemessenen Urinflußraten war der durch Verdunsten hervorgerufene Fehler so minimal, daß er vernachlässigt werden konnte und sich eine Überschichtung des Urins mit Öl erübrigte. Alle 5 Minuten wurden die Urinmengen abgelesen und die Gläschen ersetzt, um Einzelproben für die weiteren Analysen zur Verfügung zu haben.

Die Osmolalitäten der Urinproben wurden kryoskopisch durch die Gefrierpunktserniedrigung mit einem Halb-Mikroosmometer (Knauer) bestimmt.

Natrium und Kalium im Urin wurden mit Hilfe eines Eppendorf-Flammenphotometers gemessen, der Blutzucker enzymatisch mittels einer Testkombination (Biochemica Boehringer-Mannheim), wobei ein Beckmann DU-2-Spektralphotometer mit einer Wellenlänge von 430 nm benutzt wurde.

Der Blutdruck wurde fortlaufend registriert und als arithmetisches Mittel von systolischem und diastolischem Druck in den Tabellen aufgeführt, die Herzschlagfrequenz ergab sich durch Auszählen der systolischen Druckzacken aus der gleichen Schreibung.

Inulinclearance

Die Messung der glomerulären Filtrationsrate mit Hilfe der C_{14} - Inulin-Clearance erfolgte in üblicher Weise. Den Tieren wurde nach einer Initialdosis von 0,1 mg C_{14} - Inulin eine Dauerinfusion (7 mg C_{14} - Inulin/10 ml NaCl-Lösung) mit einer Infusionsrate von 3,75 ml/h infundiert. Die Messung der Radioaktivität der Urin- und Serumproben erfolgte nach entsprechender Quench-Korrektur in einem Packard-Flüssigkeits-Szintillationszählgerät. Die Berechnung erfolgte nach der üblichen Clearanceformel. Die Ergebnisse wurden auf 100 g KG berechnet.

5. Einteilung der Versuchsgruppen

a) Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe bestand aus 10 Wistar-Ratten, die (entsprechend der Menge des Lösungsmittels in den übrigen Versuchsreihen) 0,4 ml physiologische NaCl-Lösung i.v. injiziert erhielten.

b) DB - c - AMP - Gruppe (Dosis-Wirkungs-Beziehung)

In dieser Versuchsreihe wurde Wistar-Ratten
DB - c - AMP in steigenden Konzentrationen
injiziert.

- | | | |
|----|--------------------------------------|------------|
| 1) | 1.1 $\mu\text{Mol}/100 \text{ g KG}$ | (11 Tiere) |
| 2) | 1.3 " " | (13 Tiere) |
| 3) | 1.9 " " | (7 Tiere) |
| 4) | 2.5 " " | (8 Tiere) |

c) Andere cyclische Nucleotide

Gleichfalls Verwendung von Wistar-Ratten.

Injiziert wurden:

- | | | |
|----|--|------------|
| 1) | c - GMP, 56.5 $\mu\text{Mol}/100 \text{ g KG}$ | (11 Tiere) |
| 2) | c - UMP, 54.2 " " | (10 Tiere) |
| 3) | c - IMP, 59.8 " " | (10 Tiere) |
| 4) | c - CMP, 57.5 " " | (11 Tiere) |

d) Versuche an D.i.-Ratten

- | | |
|----|---|
| 1) | DB - c - AMP, 2.5 $\mu\text{Mol}/100 \text{ g KG}$.
Es wurden an 3 D.i.-Ratten insges.
5 Experimente durchgeführt. |
| 2) | c - CMP, 37.8 $\mu\text{Mol}/100 \text{ g KG}$ (6 Tiere) |

6. Berechnung

Bei der Berechnung der Ergebnisse der einzelnen
Versuchsserien wurden die Mittelwerte ($\bar{x}$) mit
Standardabweichungen ($\pm \text{SD}$) errechnet. Die Beur-
teilung der statistischen Signifikanz der Diffe-

renz der jeweiligen Mittelwerte der einzelnen Versuchperioden zu den Ausgangswerten erfolgte mit Hilfe des t - Testes nach vorhergehender Vorprobe nach Fischer.

IV. Ergebnisse

1. Einfluß cyclischer Nucleotide auf die Nierenfunktion von Wistar-Ratten

A) Kontrollgruppe

Die Tiere der Kontrollgruppe erhielten 0,4 ml einer physiologischen NaCl-Lösung i.v. appliziert. Diese Menge entsprach dem Volumen, das als Lösungsmittel bei den übrigen Versuchen verwandt wurde. Außer einer kurzfristigen, eben meßbaren Diuresezunahme waren die Osmolalität und die Natrium- und Kaliumkonzentration im Urin nicht signifikant vom Ausgangswert verschieden. Die Werte sind in Tabelle 3 und Abb. 1 enthalten.

B) DB - c - AMP - Gruppe (Dosis-Wirkungs-Beziehung)

In Vorversuchen wurde geprüft, ob eine kontinuierliche intravenöse Applikation bei der Ratte eine eindeutige Änderung der gemessenen Parameter verursacht. Die dabei verwandten Dosen von DB - c - AMP (0.05 mg/kg KG x min.; 0.24; 0.47; 2.35 mg/kg KG x min.), die z.T. über den am Hund verwandten Dosen liegen (0.5 mg/kg x min. und 0.75 mg/kg x min.) (1, 15) zeigten in den Vorversuchen keinerlei Effekte: eine signifikante Änderung von Diurese, Urinosmolalität sowie Natrium- und Kaliumkonzentration im Urin ließ sich nicht nachweisen. Daher wurde bei den folgenden Serien auf die rasche intravenöse Injektion übergegangen (2, 5, 28, 31); dabei mußte getestet werden, von welchen Konzentrationen an sich eine Wirkung auf die gemessenen Parameter zeigte.

Tab. 3 Kontrollgruppe: Verhalten von Diurese, Osmolalität, Natrium- und Kaliumkonzentration im Endharn bei Wistar-Ratten (n = 10) unter den Bedingungen konstanter Wasserdurese und zusätzlicher intravenöser Gabe von 0.9 %iger NaCl-Lösung.

- 1): Errechneter Mittelwert aus 2 Vorperioden nach Erreichen einer konstanten Diurese.
 2): Alle Angaben als Mittelwert ($\bar{x}$), Standardabweichung ($\pm$ SD) und als prozentuale Abweichung vom Ausgangswert.

*) : Signifikant verschieden vom Ausgangswert.

	Ausgangswert	0.4 ml 0.9 %iger NaCl-Lösung i. v., nach									
		5'	10'	15'	20'	25'	30'	35'	40'	45'	50'
Diurese (μ l/min)	196 ± 20 (100 %) ²⁾	214 ± 28 (109)	212 ± 16 (108)	208 ± 20 (106)	212 ± 18 (108)	212 ± 16 (108)	222 [*] ± 21 (113)	208 ± 24 (106)	206 ± 22 (105)	210 ± 13 (107)	214 [*] ± 16 (109)
Osmolalität (mosm/kg H ₂ O)	67 ± 12 (100 %)	64 ± 13 (95)	65 ± 13 (97)	65 ± 13 (97)	65 ± 13 (97)	65 ± 13 (97)	65 ± 13 (97)	65 ± 13 (97)	65 ± 13 (97)	66 ± 13 (98)	66 ± 13 (98)
Na-Konz. (mval/l)	9,2 $\pm 4,5$	9,8 $\pm 3,5$	10,7 $\pm 3,3$	11,1 $\pm 3,4$	11,1 $\pm 4,1$	11,3 $\pm 3,9$	11,5 $\pm 4,3$	11,7 $\pm 4,3$	12,2 $\pm 5,0$	12,2 $\pm 5,2$	11,8 $\pm 4,5$
K-Konz. (mval/l)	6,9 $\pm 2,9$	6,9 $\pm 2,9$	7,1 $\pm 3,6$	6,9 $\pm 3,6$	6,9 $\pm 3,4$	7,3 $\pm 4,4$	7,6 $\pm 3,9$	7,4 $\pm 3,8$	7,5 $\pm 4,0$	7,4 $\pm 3,8$	7,5 $\pm 3,9$



Abbildung 1

Zunahme der Urinosmolalität nach Gabe verschiedener Konzentrationen von DB - c - AMP bei Wistar-Ratten in Wasserdiurese.

++++ = Kontrollgruppe
 = 1,1 μmol DB - c - AMP/100 g KG
 -.-.-.- = 1,3 μmol DB - c - AMP/100 g KG
 — · — · — = 1,9 μmol DB - c - AMP/100 g KG
 ————— = 2,5 μmol DB - c - AMP/100 g KG

Tab. 4 Einfluß einer intravenösen Gabe von 1.1 µMol DB - c - AMP/100 g KG auf Diurese, Osmolalität, Natrium- und Kaliumkonzentration im Endharn bei Wistar-Ratten (n = 11) unter den Bedingungen konstanter Wasserdiurese (Angaben entsprechen denen in Tab. 3).

	Ausgangs- wert	1.1 µMol DB - c - AMP/100 g KG i.v., nach			
		5'	10'	15'	20' 25'
Diurese (µl/min)	156 +24 (100 %)	158 +31 (102)	182 +58 (117)	158 +59 (102)	149 +61 (97)
Osmolalität (mosm/kg H ₂ O)	82 +10 (100 %)	80 +14 (97)	83 +23 (101)	104 +64 (126)	119 +88 (145)
Na-Konz. (mval/l)	1.8 +0.8	2.0 +0.9	3.7 +3.3	4.4 [*] +2.3	3.4 [*] +1.8
K-Konz. (mval/l)	2.4 +1.1	3.0 +1.6	4.6 [*] +2.3	6.1 [*] +2.7	6.4 [*] +2.7
					7.4 [*] +2.4

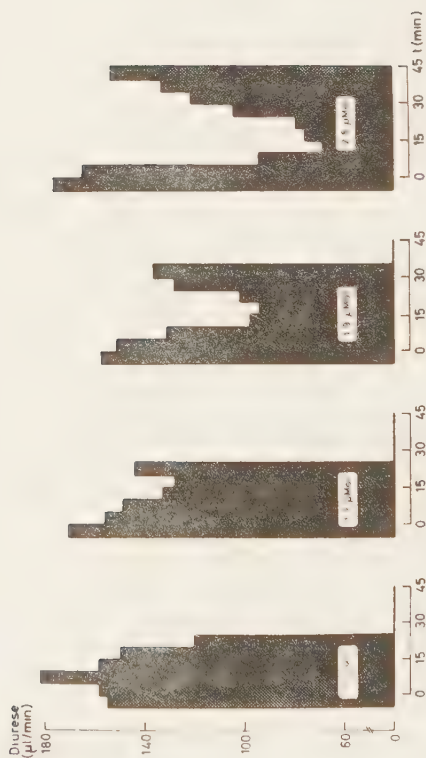


Abbildung 2

Einfluß verschiedener Konzentrationen von
DB - c - AMP auf die Diurese bei Wistar-Ratten
in Wasserdurese.

- a) Im Vergleich zur Kontrollgruppe bzw. zum Ausgangswert zeigte sich nach Injektion von 1.1 μ Mol/100 g KG DB - c - AMP eine geringgradige Erhöhung sowohl der Diurese von 156 μ l/min. (100 %) auf 182 μ l/min. (117 %) als auch der Osmolalität von 82 mosm/kg H₂O auf 119 mosm/kg H₂O. Beide Werte waren jedoch nicht signifikant vom Ausgangswert verschieden und entsprachen wohl am ehesten dem bereits in der Kontrollgruppe nachweisbaren Effekt der Injektion der NaCl-Lösung. In einem signifikanten Anstieg der Natrium- und Kaliumkonzentration im Endharn von 1.8 auf etwa 4 mval/l und von etwa 2.5 auf 6 mval/l nach 10 bzw. 15 Minuten, der bei drei Tieren besonders ausgeprägt war, deutet sich möglicherweise ein beginnender renaler Effekt von DB - c - AMP in der angewandten Konzentration an. Eine entscheidende Änderung gegenüber den Ausgangswerten und Kontrolltieren ist bei einer Dosis von 1.1 μ Mol/100 g KG jedoch nicht nachzuweisen (Tabelle 4, Abb. 1, 2).
- b) Die nur geringe Erhöhung der Dosis auf 1.3 μ Mol/100 g KG zeigte dagegen in nahezu allen Fällen einen signifikanten Effekt, und zwar bereits 10 Minuten nach Gabe des cyclischen Nucleotides. Dabei kommt es vorwiegend zu einem Anstieg der Urinosmolalität (auf etwa das 2,5-fache des Ausgangswertes), während die Diurese nur um etwa 25 % abfällt. Entsprechend deutlich ist bei allerdings großer Streuung der Einzelwerte der Anstieg der Natrium- und Kaliumkonzentration im Urin (Tabelle 5, Abb. 1, 2).

Tab. 2 Einfluß einer intravenösen Gabe von $1.3 \mu\text{Mol DB} - c - \text{AMP}/100 \text{ g KG}$ auf Diurese,

Osmolalität, Natrium- und Kaliumkonzentration im Endharn bei Wistar-Ratten ($n = 13$)
unter den Bedingungen konstanter Wasserdurese (Angaben entsprechen denen in Tab. 3).

	Ausgangs- wert	5'	1.3 $\mu\text{Mol DB} - c - \text{AMP}/100 \text{ g KG}$ i. v., nach			
			10'	15'	20'	25', nach 30'
Diurese ($\mu\text{l}/\text{min}$)	170 ± 19 (100 %)	155 ± 42 (91)	148 ± 80 (87)	132* ± 51 (78)	132* ± 51 (78)	127* ± 43 (75) (84)
Osmolalität ($\text{mosm}/\text{kg H}_2\text{O}$)	76 ± 24 (100 %)	80 ± 30 (106)	124* ± 70 (162)	183* ± 106 (240)	154* ± 81 (203)	183* ± 127 (240) (255)
Na-Konz. (mval/l)	2.4 ± 1.3	4.9 ± 6.3	17.7 ± 30.8	27.8* ± 38.9	19.5 ± 31.2	24.9* ± 36.6 26.8 ± 27.6
K-Konz. (mval/l)	6.7 ± 7.6	7.4 ± 6.6	14.5 ± 11.9	26.6* ± 23.0	20.0* ± 16.1	25.0* ± 22.7 25.0 ± 23.1

- c) Bei einer weiteren Steigerung der Dosis auf fast 2 μ Mol/100 g KG zeigt sich bei 7 untersuchten Tieren eine weitere Steigerung des ADH-ähnlichen Effektes. Zwei Tiere reagierten mit einer derartig ausgeprägten Antidiurese, daß nicht genügend Urin für die Osmolalitäts-, Natrium- und Kaliumbestimmung zur Verfügung stand, so daß nur die Werte der weniger stark reagierenden Tiere verwendet werden konnten. Unter Berücksichtigung dieser Gegebenheit bleibt ein Effekt nachweisbar, der über dem der Vorgruppe lag (Tabelle 6, Abb. 1, 2).
- d) Bei der letzten Gruppe dieser Serie, bei der jedes Tier eine Dosis von 2.5 μ Mol/100 g KG erhielt, wurden prinzipiell die gleichen Ergebnisse wie bei der Vorgruppe gewonnen. Bei einem Teil der Tiere in dieser Serie kam es zu deutlichen Kreislaufreaktionen. Um sicher zu sein, daß die gemessenen Parameter nicht Folge derartiger nicht-renaler Wirkungen sind, wurden alle Tiere, bei denen eine Änderung der Kreislaufverhältnisse beobachtet wurde, von der weiteren Berechnung ausgeschlossen (Tabelle 7, Abb. 1, 2).

Eine weitere Dosissteigerung schien wenig sinnvoll, da offensichtlich andere Organsysteme so massiv beeinflußt wurden, daß die gemessenen Effekte nicht mehr nur durch die Wirkung der Substanzen auf die Niere zu erklären waren.

Tab. 6 Einfluß einer intravenösen Gabe von 1.9 μ Mol DB - c - AMP/100 g KG auf Diurese,

Osmolalität, Natrium- und Kaliumkonzentration im Endharn bei Wistar-Ratten (n = 7)
unter den Bedingungen konstanter Wasserdurese (Angaben entsprechen denen in Tab. 3)

	Ausgangs- wert	1.9 μ Mol DB - c - AMP/100 g KG i.v., nach						
		5'	10'	15'	20'	25'	30'	35'
Diurese (μ l/min)	156 $\pm$ 16 (100 %)	150 $\pm$ 54 (96)	130 $\pm$ 70 (84)	97* $\pm$ 62 (62)	93* $\pm$ 60 (60)	101* $\pm$ 49 (65)	127 $\pm$ 58 (81)	135 $\pm$ 36 (87)
Osmolalität (mosm/kg H ₂ O)	72 $\pm$ 19 (100 %)	78 $\pm$ 18 (109)	105* $\pm$ 32 (146)	187* $\pm$ 102 (261)	243* $\pm$ 147 (339)	194* $\pm$ 106 (270)	188* $\pm$ 89 (262)	176* $\pm$ 37 (245)
Na-Konz. (mval/l)	3.6 $\pm$ 3.1	5.0 $\pm$ 2.7	12.3* $\pm$ 8.6	36.0* $\pm$ 31.5	39.2* $\pm$ 33.8	19.5* $\pm$ 16.0	21.0* $\pm$ 19.5	32.3* $\pm$ 25.9
K-Konz. (mval/l)	5.0 $\pm$ 4.1	6.5 $\pm$ 4.6	11.4 $\pm$ 9.2	23.4* $\pm$ 19.5	38.0* $\pm$ 37.1	23.4* $\pm$ 17.6	24.1* $\pm$ 16.6	24.0* $\pm$ 0.4

Tab. 7 Einfluß einer intravenösen Gabe von $2.5 \mu\text{Mol DB} - c - \text{AMP}/100 \text{ g KG}$ auf Diurese, Osmolalität, Natrium- und Kaliumkonzentration im Endharn bei Wistar-Ratten ($n = 8$) unter den Bedingungen konstanter Wasserdurese (Angaben entsprechen denen in Tab. 3).

	Ausgangs- wert	$2.5 \mu\text{Mol DB} - c - \text{AMP}/100 \text{ g KG i.v., nach}$									
		5'	10'	15'	20'	25'	30'	35'	40'	45'	
Diurese ($\mu\text{l}/\text{min}$)	175 ± 24 (100 %)	163 ± 69 (93)	93* ± 106 (53)	68* ± 53 (39)	75* ± 53 (43)	78* ± 46 (44)	103* ± 47 (59)	120* ± 40 (69)	132* ± 48 (75)	152 ± 37 (87)	
Osmolalität ($\text{mosm}/\text{kg H}_2\text{O}$)	81 ± 19 (100 %)	75 ± 13 (92)	122* ± 45 (150)	191* ± 72 (235)	208* ± 75 (256)	200* ± 88 (246)	172* ± 77 (211)	172* ± 108 (211)	157* ± 55 (193)	131* ± 36 (161)	
Na-Konz. (mval/l)	2.5 ± 1.9	3.9 ± 3.9	15.8* ± 8.9	18.5* ± 15.6	8.8* ± 4.0	9.6* ± 7.6	7.9* ± 5.5	6.9* ± 4.5	10.6* ± 7.7	16.2 ± 20.0	
K-Konz. (mval/l)	5.1 ± 1.7	5.4 ± 2.4	18.7* ± 16.2	26.3* ± 13.5	28.3* ± 19.2	25.3* ± 13.7	17.9* ± 10.1	19.6* ± 19.1	17.1* ± 9.7	12.0* ± 5.2	

Zusammengefaßt läßt sich aus dieser Versuchsserie ableiten, daß der maximale Effekt an der Niere bereits nach etwa 10 Minuten erreicht war und daß die Diurese 45 Minuten nach Applikation der Substanzen in nahezu allen Fällen wieder auf den Ausgangswert zurückgekehrt war: ein der ADH-Wirkung ähnliches Verhalten.

C) Andere cyclische Nucleotide

Um zu überprüfen, ob andere cyclische Nucleotide eine dem c - AMP entsprechende Wirkung an der Niere entfalten, wurden die folgenden Versuche durchgeführt.

- a) C - GMP zeigte in einer Dosis von $25.3 \mu\text{Mol}/100 \text{ g KG}$ keinerlei Wirkung. Bei Verdoppelung dieser Dosis zeigte sich bei allen 11 Tieren dieser Serie ein deutlicher Effekt (Tabelle 8). Zwei offensichtlich verschiedene Befunde ließen sich voneinander abgrenzen: So ging über eine Dauer von 10 - 15 Minuten nach der Injektion eine Erhöhung der Herzfrequenz mit einer Zunahme der Diurese einher. Andererseits war über die gesamte Versuchsdauer von 50 Minuten ein signifikanter Anstieg der Urinosmolalität mit entsprechender Zunahme der Natrium- und Kaliumkonzentration nachweisbar.

Schließlich wurde ein Anstieg des Blutzuckers von 80 auf 90 mg% nach 10 Minuten und ca. 100 mg% nach 50 Minuten gefunden. Die übrigen gemessenen Parameter zeigen keine signifikante Änderung (Tabelle 8).

Tab. 8 Einfluß einer intravenösen Gabe von $56.5 \mu\text{Mol c} - \text{GMP}/100 \text{ g KG}$ auf Diurese, Osmolalität, Natrium- und Kaliumkonzentration im Endharn bei Wistar-Ratten ($n = 11$) in Wasserdurese (Angaben entsprechen denen in Tab. 3).

	Ausgangs- wert	56.5 $\mu\text{Mol c} - \text{GMP}/100 \text{ g KG}$ i. v., nach									
		5'	10'	15'	20'	25'	30'	35'	40'	45'	50'
Diurese ($\mu\text{l}/\text{min}$)	198 ± 60 (100 %)	293* ± 85 (151)	273* ± 91 (140)	218 ± 78 (110)	198 ± 71 (100)	184 ± 63 (93)	180 ± 63 (91)	182 ± 61 (92)	191 ± 62 (96)	207 ± 54 (105)	196 ± 55 (99)
Osmolalität ($\text{mosm}/\text{kg H}_2\text{O}$)	70 ± 14 (100 %)	91* ± 13 (150)	80* ± 14 (123)	86* ± 16 (123)	88* ± 17 (125)	89* ± 15 (126)	87* ± 14 (126)	86* ± 15 (123)	85* ± 15 (121)	82 ± 15 (117)	80 ± 14 (114)
Na-konz. (mval/l)	8.1 ± 4.4	23.0* ± 12.4	20.8* ± 10.1	18.1* ± 8.7	16.7* ± 7.3	15.2* ± 6.5	14.5* ± 5.6	14.0* ± 5.4	14.2* ± 6.3	13.9* ± 6.4	14.0* ± 7.0
K-konz. (mval/l)	4.9 ± 1.3	6.7* ± 1.6	7.6* ± 2.0	9.4* ± 2.2	10.3* ± 2.5	10.8* ± 2.5	10.9* ± 2.7	10.7* ± 2.7	10.4* ± 2.8	10.0* ± 3.0	9.8* ± 2.9
Blutzucker ($\text{mg \%}$)	79 ± 16	86 ± 16									
Herzfrequenz (Schläge/min)	404 ± 14	431* ± 15	435* ± 22	424 ± 21	408 ± 41	417 ± 9	413 ± 13	409 ± 11	410 ± 24	404 ± 15	404 ± 15
Blutdruck (mmHg)	135 ± 25	125 ± 20	120 ± 20	115 ± 25	115 ± 25	115 ± 20	120 ± 20	125 ± 20	120 ± 20	120 ± 20	115 ± 25

- b) Die Applikation von c - UMP in etwa gleicher Konzentration von $54.2 \mu\text{Mol}/100 \text{ g KG}$ ergab bei 10 Tieren eine diskrete Abnahme der Diurese bei deutlicher Erhöhung der Osmolalität, die bereits 5 Minuten nach der Injektion nachweisbar war und noch nach 35 Minuten signifikant über dem Ausgangswert lag. Entsprechend deutlich änderten sich auch bei einer erheblichen Streuung die Natrium- und Kaliumkonzentrationen im Urin; die übrigen Parameter blieben unverändert, bis auf eine geringfügige Blutdruckabnahme gegen Versuchsende (Tabelle 9).
- c) Nach Applikation von $59.8 \mu\text{Mol}$ c - IMP/100 g KG bei 10 Tieren kam es zu einer geringfügigen Zunahme der Diurese in den ersten 5 Minuten nach der Injektion. Zu berücksichtigen ist allerdings, daß wegen der schlechten Löslichkeit des c - IMP die doppelte Menge Lösungsmittel verwandt wurde (0.8 ml). Möglicherweise liegt darin eine Erklärung dieses Befundes. Unabhängig davon zeigte sich eine geringgradige aber signifikante Erhöhung der Osmolalität mit gleichzeitigem Anstieg der Natrium- und Kaliumkonzentration auf etwa das 2-fache des Ausgangswertes. Parallel dazu verlief ein deutlicher aber kurzfristiger Anstieg des Blutzuckers nach 10 Minuten, der nach 50 Minuten schon nicht mehr nachweisbar war. In den ersten 15 Versuchsminuten fiel der Blutdruck um etwa 10 % ab, die Herz- und Atemfrequenz waren nicht signifikant verändert (Tabelle 10).

Tab. 9 Einfluß einer intravenösen Gabe von $54.2 \mu\text{Mol c} - \text{UMP}/100 \text{ g KG}$ auf Diurese, Osmolalität, Natrium- und Kaliumkonzentration im Endharn bei Wistar-Ratten ($n = 10$) in Wasserdurese (Angaben entsprechen denen in Tab. 3 und Tab. 8).

	Ausgangs- wert	$54.2 \mu\text{Mol c} - \text{UMP}/100 \text{ g KG i.v., nach}$									
		5'	10'	15'	20'	25'	30'	35'	40'	45'	50'
Diurese ($\mu\text{l}/\text{min}$)	217 ± 40 (100 %)	232 ± 52 (107)	194 ± 49 (89)	186 ± 51 (56)	182 ± 56 (84)	180* ± 36 (83)	192 ± 38 (89)	194 ± 36 (89)	202 ± 38 (93)	212 ± 37 (98)	210 ± 41 (97)
Osmolalität ($\text{mosm}/\text{kg H}_2\text{O}$)	76 ± 18 (100 %)	96* ± 15 (126)	115* ± 31 (150)	116* ± 34 (152)	111* ± 33 (145)	105* ± 28 (138)	102* ± 25 (134)	100* ± 28 (131)	92 ± 17 (121)	88 ± 15 (116)	87 ± 16 (114)
Na-Konz. (mval/kg)	9.3 ± 6.4	15.7 ± 8.0	18.2* ± 9.5	19.6* ± 10.0	18.7* ± 9.2	16.8* ± 7.8	13.7 ± 4.8	12.9 ± 4.3	12.7 ± 5.4	13.9 ± 7.8	14.4 ± 7.0
K-Konz. (mval/l)	8.3 ± 3.4	11.0 ± 3.6	15.5* ± 4.7	15.8* ± 5.2	15.9* ± 5.1	14.8* ± 5.2	14.6 ± 9.7	14.6 ± 11.6	12.2 ± 6.1	11.3 ± 4.2	10.7 ± 3.7
Blutzucker ($\text{mg \%}$)	77 ± 11	84 ± 13									87 ± 14
Herzfrequenz (Schläge/min)	416 ± 20	399 ± 35	397 ± 38	398 ± 41	395 ± 44	397 ± 43	395 ± 42	410 ± 50	404 ± 45	413 ± 50	414 ± 50
Blutdruck (mm Hg)	145 ± 15	140 ± 15	140 ± 15	135 ± 15	135 ± 15	135 ± 20	135 ± 20	140 ± 20	135 ± 20	130* ± 15	130* ± 15

Tab. 10 Einfluß einer intravenösen Gabe von $59.8 \mu\text{Mol c} - \text{IMP}/100 \text{ g KG}$ auf Diurese, Osmolalität, Natrium- und Kaliumkonzentration im Endharn bei Wistar-Ratten ($n = 10$) in Wasserdürese (Angaben entsprechen denen in Tab. 3 und Tab. 8).

	Ausgangs- wert	59.8 $\mu\text{Mol c} - \text{IMP}/100 \text{ g KG}$ i. v., nach									
		5'	10'	15'	20'	25'	30'	35'	40'	45'	50'
Diurese ($\mu\text{l}/\text{min}$)	220 ± 22 (100 %)	242 ± 28 (110)	226 ± 30 (103)	212 ± 27 (96)	210 ± 21 (96)	224 ± 27 (102)	216 ± 20 (98)	220 ± 24 (100)	214 ± 25 (97)	226 ± 18 (103)	222 ± 14 (101)
Osmolalität ($\text{mosm}/\text{kg H}_2\text{O}$)	62 ± 9 (100 %)	76 [*] ± 18 (123)	88 [*] ± 29 (142)	86 [*] ± 21 (139)	84 [*] ± 19 (135)	78 [*] ± 14 (125)	74 [*] ± 11 (119)	71 ± 8 (114)	68 ± 10 (110)	63 ± 8 (102)	63 ± 9 (102)
Na-Konz. (mval/l)	8.1 ± 3.4	14.4 [*] ± 7.3	18.4 [*] ± 9.7	18.1 [*] ± 9.4	17.3 [*] ± 9.2	16.1 [*] ± 8.5	14.4 [*] ± 6.6	12.4 ± 6.7	13.0 ± 11.1	10.7 ± 7.4	9.5 ± 4.8
K-Konz. (mval/l)	7.4 ± 2.7	9.5 ± 2.9	14.0 [*] ± 4.0	15.8 [*] ± 4.6	15.5 [*] ± 4.9	13.3 [*] ± 4.6	11.1 [*] ± 3.8	10.0 ± 3.9	9.4 ± 2.8	8.1 ± 2.2	7.8 ± 2.2
Blutzucker ($\text{mg} \%$)	99 ± 9	135 [*] ± 24								100 ± 7	
Herzfrequenz (Schläge/min)	426 ± 29	431 ± 28	419 ± 33	419 ± 25	421 ± 29	419 ± 30	422 ± 34	420 ± 33	423 ± 34	423 ± 32	424 ± 31
Blutdruck (mm Hg)	140 ± 15	125 [*] ± 15	130 ± 10	130 ± 10	135 ± 15	140 ± 15	135 ± 10	135 ± 10	140 ± 15	135 ± 15	135 ± 15

- d) Die Gabe von $57.5 \mu\text{Mol}$ c - CMP/100 g KG ergab im wesentlichen ähnliche Ergebnisse wie die Injektion von c - UMP. Bei einer Diureseabnahme um maximal 25 % war eine Zunahme der Urinosmolalität um etwa das Doppelte und ein kurzfristiger Blutzuckeranstieg nachweisbar sowie ein deutlicher Anstieg der Natrium- und Kaliumkonzentration im Urin (Tabelle 11).

2. Einfluß cyclischer Nucleotide auf die Nierenfunktion von D.i.-Ratten

In Ergänzung zu den Experimenten an Wistar-Ratten wurden in zwei weiteren Versuchsreihen der Effekt von DB - c - AMP und c - CMP an D.i.-Ratten geprüft. Diese Tiere sind zu keinerlei endogener ADH-Produktion fähig, so daß prinzipiell gleiche Versuchsergebnisse wie bei den Wistar-Ratten, deren ADH-Freisetzung ja durch die Wasserdiurese supprimiert war, erwartet werden konnten. Da nur eine begrenzte Zahl von Tieren zur Verfügung stand, wurde zwei Tieren, die nach der ersten Injektion von DB - c - AMP erneut eine konstante Wasserdiurese hatten, die Substanz ein zweites Mal injiziert.

- A) Die Injektion von $2.5 \mu\text{Mol}$ DB - c - AMP/100 g KG zeigte in fünf Versuchen erwartungsgemäß gleiche Effekte, wie sie schon bei den Wistar-Ratten registriert wurden, nämlich eine Diurese-Hemmung und einen Anstieg der Urinosmolalität.

Tab. 11 Einfluß einer intravenösen Gabe von $57.5 \mu\text{Mol c} - \text{CMP}/100 \text{ g KG}$ auf Diurese, Osmolalität, Natrium- und Kaliumkonzentration im Endharn bei Wistar-Ratten ($n = 11$) in Wasserdiaurese (Angaben entsprechen denen in Tab. 3 und Tab. 8).

	Ausgangs- wert	$57.5 \mu\text{Mol c} - \text{CMP}/100 \text{ g KG i.v., nach}$									
		5	10'	15'	20'	25'	30'	35'	40'	45'	50'
Diurese ($\mu\text{l}/\text{min}$)	190 ± 46 (100 %)	220 ± 59 (116)	191 ± 90 (101)	158 ± 90 (83)	144 ± 74 (76)	156 ± 51 (82)	163 ± 42 (86)	164 ± 41 (86)	166 ± 41 (87)	171 ± 43 (90)	178 ± 35 (94)
Osmolalität ($\text{mosm}/\text{kg H}_2\text{O}$)	92 ± 19 (100 %)	108 ± 23 (117)	122 [*] ± 32 (132)	115 [*] ± 24 (125)	190 ± 158 (206)	146 [*] ± 43 (159)	125 [*] ± 25 (135)	111 [*] ± 17 (119)	106 ± 20 (106)	98 ± 19 (106)	95 ± 20 (103)
Na-Konz. (mval/l)	9.0 ± 6.3	16.6 [*] ± 9.9	15.2 ± 9.1	20.6 [*] ± 14.2	23.5 [*] ± 20.6	17.6 ± 12.8	15.3 ± 10.9	13.4 ± 9.8	13.2 ± 9.3	13.2 ± 10.5	13.0 ± 10.4
K-Konz. (mval/l)	9.0 ± 1.2	13.0 [*] ± 2.7	17.6 [*] ± 4.6	30.4 [*] ± 29.5	39.7 [*] ± 41.7	32.0 [*] ± 20.3	22.3 [*] ± 8.1	18.8 [*] ± 6.5	16.6 [*] ± 6.5	13.4 [*] ± 2.6	12.8 [*] ± 2.8
Blutzucker ($\text{mg \%}$)	85 ± 13	105 [*] ± 5	91 ± 5								
Herzfrequenz (Schläge/min)	440 ± 33	441 ± 38	457 ± 30	454 ± 26	448 ± 30	448 ± 29	455 ± 31	458 ± 25	460 ± 20	467 ± 13	465 ± 15
Blutdruck (mm Hg)	140 ± 10	130 ± 10	130 ± 10	130 ± 10	135 ± 10	125 ± 10	130 ± 10	130 ± 10	130 ± 5	130 ± 10	130 ± 10

Beide Werte erreichten 10 bzw. 15 Minuten nach der Injektion eine maximale Änderung von 50 % verglichen mit den Ausgangswerten. Die Zunahme der Natrium- und Kaliumkonzentration im Urin entsprach dem Osmolalitätszuwachs. Drei Tiere zeigten eine so ausgeprägte Diuresehemmung, daß bei ihnen keine Urinproben für die Osmolalitäts-, Natrium- und Kaliumbestimmung gewonnen werden konnten. Dies erklärt die große Streuung der Einzelwerte. Außerdem muß berücksichtigt werden, daß der errechnete Mittelwert den tatsächlichen Effekt sicher unterrepräsentiert, da gerade die Werte nicht mit in die Berechnung eingingen, die einen besonders effektiven Einfluß gezeigt hatten (Tabelle 12).

- B) Nach Gabe von $38 \mu\text{Mol c - CMP}/100 \text{ g KG}$ bei sechs Tieren kam es, verglichen mit dem Kontrollwert und dem analogen Versuch bei Wistar-Ratten, zu einer vermehrten Urinausscheidung kurz nach der Injektion. Die Zunahme der Urinosmolalität um etwa 30 % und der Anstieg des Natrium- und Kaliumgehaltes im Urin stimmte mit den Befunden bei Wistar-Ratten überein. Neben einer geringfügigen, aber nichtsignifikanten Zunahme der Herzfrequenz ließ sich der schon bekannte Effekt des Blutzuckeranstiegs verifizieren. Die übrigen gemessenen Parameter zeigten keine wesentlichen Änderungen (Tabelle 13).

3. Theophyllin und DB - c - AMP

Nachdem in einer großen Zahl von Experimenten ein die c - AMP - Wirkung potenzierender Effekt

Tab. 12 Einfluß einer intravenösen Gabe von 2.5 uMol DB - c - AMP/100 g KG auf Diurese, Osmolalität, Natrium- und Kaliumkonzentration im Endharn bei D.i.-Ratten (n = 5) in Wasserdurese (Angaben entsprechen denen in Tab. 3 und Tab. 8).

	Ausgangs- wert	2.5 uMol DB - c - AMP/100 g KG i.v., nach			
		5'	10'	15'	25'
Diurese (ul/min)	168 +23 (100 %)	160 +47 (95)	80* +66 (42)	80* +44 (42)	120 +55 (71) 155 +33 (92)
Osmolalität (mosm/kg H ₂ O)	96 +16 (100 %)	85 +11 (89)	130 +58 (135)	161* +54 (167)	156 +58 (162) 137 +49 (142)
Na-Konz. (mval/l)	1.0 +0.9	3.4 +2.2	4.5* +1.5	3.8* +2.4	2.8 +1.6 +8.3
K-Konz. (mval/l)	3.8 +2.2	3.7 +1.6	8.2 +5.5	7.4 +4.1	5.8 +2.2 6.7 +2.4
Herzfrequenz (Schläge/min)	382 +23	390 +18	404 +16	402 +12	391 +14 393 +19
Blutdruck (mm Hg)	120 + 5	110 +10	105* +10	110 +10	115 + 5 120 +10

Tab. 13 Einfluß einer intravenösen Gabe von 37.8 μ Mol c - CMP/100 g KG auf Diurese, Osmolalität, Natrium- und Kaliumkonzentration im Endharn von D.i.-Ratten (n = 6) in Wasserdurese (Angaben entsprechen denen in Tab. 3 und Tab. 8).

	Ausgangs- wert	37.8 μ Mol c - CMP/100 g KG i.v., nach									
		5'	10'	15'	20'	25'	30'	35'	40'	45'	50'
Diurese (μ l/min)	260 +10 (100 %)	293 +32 (113)	283 +34 (109)	283 +27 (109)	267 +19 (103)	257 +18 (99)	257 +24 (99)	260 +23 (100)	250 +19 (96)	245 +22 (94)	270 +22 (104)
Osmolalität (mosm/kg H ₂ O)	53 +5 (100 %)	68 [*] +8 (129)	65 [*] +7 (123)	62 [*] +6 (117)	61 [*] +6 (115)	60 +6 (113)	59 +7 (111)	57 +8 (108)	60 +10 (114)	53 +7 (101)	52 +7 (99)
Na-Konz. (mval/l)	0.3 +0.5	6.3 [*] +2.0	3.7 [*] +1.1	1.7 [*] +0.5	1.2 [*] +0.7	0.8 +0.7	0.5 +0.5	0.5 +0.8	0.3 +0.5	0.5 +0.5	0.5 +0.5
K-Konz. (mval/l)	2.0 +1.7	4.5 +2.4	6.9 [*] +3.1	7.7 [*] +3.5	8.1 [*] +3.9	8.0 [*] +3.9	7.2 [*] +4.1	6.5 [*] +4.0	6.0 [*] +2.7	5.9 [*] +2.4	5.5 [*] +2.2
Blutzucker (mg%)	97 +16	128 [*] +21									118 [*] +16
Herzfrequenz (Schläge/min)	470 +10	483 [*] +9	480 +11	479 +12	483 [*] +10	475 +8	475 +6	475 +14	466 +10	480 +0	475 +5
Blutdruck (mm HG)	145 +5	140 +5	140 +5	140 +5	140 +5	140 +5	135 +10	140 +15	135 +10	145 +0	145 +0

- . . -

von Theophyllin (via Hemmung der das c - AMP spaltenden Phosphodiesterasenaktivität (20, 34, 35, 36, 41, 48) nachgewiesen worden war, besonders an isolierten Tubuli (18, 19), lag die Durchführung entsprechender Experimente unter den angegebenen Versuchsbedingungen nahe.

Weder die Gabe von 0.06 mg Euphyllin^(R)/100 g KG noch die geringer Dosen von DB - c - AMP (0.5 μ Mol/100 g KG) führten zu einer Änderung der gemessenen Parameter. Erst nach gleichzeitiger Applikation beider Substanzen kam es bei fast allen Tieren zum völligen Sistieren der Diurese über einen längeren Zeitraum. Es zeigten sich erhebliche Kreislaufreaktionen wie Blutdruckabfall, Tachykardie und Tachypnoe. Wegen der massiven extrarenalen Effekte konnten keine verwertbaren Daten gewonnen werden, so daß lediglich eine orientierende Aussage bleibt, die den unter anderen Versuchsbedingungen quantifizierten Effekt zumindest qualitativ bestätigt.

4. Blutdruck-, Blutzucker- und Clearancemessung

In einer Reihe der Versuche (s. Tabellen) wurden Blutdruck und Herzfrequenz bestimmt. Kreislaufeffekte traten erst bei hohen Dosen auf; in den ausgewerteten Versuchen waren deutlich niedrigere Konzentrationen verwandt worden.

Der von anderen nachgewiesene Effekt verschiedener cyclischer Nucleotide auf den Blutzuckerspiegel

wurde auch in einer Reihe eigener Experimente verifiziert (Tabelle 8 - 11, 13). Um einen Einfluß der getesteten Substanzen auf die glomeruläre Filtrationsrate auszuschließen, wurde in einer gesonderten Versuchsreihe die radioaktive Inulinclearance gemessen. Dabei ergab sich in 27 Clearance-Perioden in Wasserdiurese ein Wert von 1.05 ± 0.28 ml/min. $\times$ 100 g KG, nach Gabe von DB - c - AMP bei 25 Perioden ein Wert von 1.01 ± 0.30 ml/min. $\times$ 100 g KG. Entsprechende orientierende Versuche wurden auch mit c - UMP und c - CMP gemacht; auch hierbei war eine signifikante Clearanceänderung nicht nachweisbar.

V. Diskussion

Die Bedeutung des c - AMP als Vermittler von Hormonwirkungen ("second messenger"-Theorie von Sutherland) kann als bewiesen gelten. Für ein weiteres, natürlich vorkommendes, cyclisches Nucleotid, das c - GMP, wurden gleichfalls Einflüsse auf verschiedenste Stoffwechselvorgänge nachgewiesen (9, 11, 16, 29, 37, 51, 53); die genauen Wirkungsmechanismen sind noch ungeklärt (14, 39). Möglicherweise hat es ebenfalls eine Bedeutung als Vermittler von Hormonwirkungen (3, 11, 14, 16, 22, 24).

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob noch weitere, dem c - AMP chemisch verwandte Stoffe zu einfach meßbaren Änderungen der Nierenfunktion führen.

1. Diskussion zur Methode

Bei der Untersuchung der biologischen Wirksamkeit von Substanzen, z.B. der cyclischen Nucleotide, stehen drei grundsätzlich verschiedene Wege zur Verfügung:

- a) Untersuchungen von Hormoneffekten mit Hilfe biochemischer Methoden an isolierten Gewebverbänden, Zellen, Zellorganellen oder Enzymfraktionen. Dieses methodische Vorgehen bei der Charakterisierung der cyclischen Nucleotidwirkung wurde ganz überwiegend von den Arbeits-

gruppen um Sutherland (22); White, Aurbach (52) und Böhme (6) beschrieben.

- b) Durch pharmakologisch-physiologische Untersuchungsmethoden werden dagegen besondere Situationen geschaffen und die Antwort des Organismus darauf registriert. So wurden z.B. durch Hormonverarmungen oder Substitution mit max. Hormonaktivitäten bestimmte Parameter verändert und im Anschluß daran das Verhalten der cyclischen Nucleotide auf solche Zustandsveränderungen gemessen. Mit derartigen Methoden wurde beispielsweise der Gewebs- und Blutspiegel und die Ausscheidung im Urin geprüft (8, 17, 23, 32). In diese Gruppe methodischer Untersuchungstechniken wären die in vitro-Versuche an isolierten Organen oder Organsystemen und Amphibienhäuten einzuordnen (20, 26, 47).
- c) Einen anderen Weg gingen Untersucher, die cyclische Nucleotide applizierten (teils als einmalige Gabe, teils als Dauerinfusion am intakten Organismus oder an isolierten Organen) und die sich dabei ändernden Funktionen an Hand bestimmter Parameter wie Herzzeitvolumen, Diurese, Änderung der Glykogenolyse, der Steroidproduktion usw. gemessen haben (1, 2, 5, 15, 16, 25, 27, 28, 31).

Die vorliegende Arbeit folgt dem letztgenannten methodischen Weg. Dabei wurde von folgenden grundlegenden Befunden (s. Literaturübersicht) ausgegangen:

1. Das c - AMP spielt eine entscheidende Rolle bei der Vermittlung von hormonalen Wirkungen an der Niere.
2. Durch die Befunde an Amphibienmembranen kommt auch das c - GMP als Substanz mit einer Wirkung auf die Nieren in Betracht.

Da Versuche über den Einfluß von c - AMP und DB - c - AMP auf die Nierenfunktion von Mensch (28), Hund (1, 15), Kaninchen (5) und Ratte (2) vorliegen, schien es sinnvoll, auch die Wirkung anderer cyclischer Nucleotide zu untersuchen.

Die bisher erhobenen Befunde sind bei recht unterschiedlichem Versuchsaufbau kaum miteinander vergleichbar; weitere Untersuchungen schienen angezeigt. Als Versuchstier wurde bei den vorliegenden Versuchen die hydrierte Wistar-Ratte gewählt, denn von anderen Autoren sind vergleichbare Untersuchungen an diesem Modell, wenn auch nicht mit den gleichen Substanzen durchgeführt worden (2, 4).

An 81 männlichen Wistar-Ratten und 9 D.i.-Ratten wurde der Effekt einer einmaligen intravenösen Gabe cyclischer Nucleotide auf verschiedene Parameter der Niere untersucht. Obwohl einige Autoren intravenöse Dauerinfusionen von c - AMP und DB - c - AMP am Hund applizierten (1, 15, 31) wurde selbst mit Dosen, die z.T. über den berichteten lagen, in den vorliegenden Untersuchungen kein Effekt erzielt. Möglicherweise sind Speziesunterschiede oder die Verteilung der

Substanz auf den gesamten intravasalen Raum mit einer dann zu geringen Konzentration am Erfolgsorgan für diese Diskrepanz verantwortlich.

Effekte auf andere Organsysteme mit mittelbaren Folgen auf die gemessenen Parameter und daher der Möglichkeit, direkte renale Effekte vorzutäuschen, sollten dadurch vermieden werden, daß möglichst geringe Dosen appliziert wurden und daß Daten von Experimenten mit eindeutigen Änderungen nicht-renaler Parameter (z.B. Kreislaufparameter) ausgeschlossen werden.

2. Diskussion zu den Ergebnissen

A) Cyclisches Adenosin - 3': 5'- monophosphat

Befunde an isolierten Amphibienmembranen stützten die Annahme, daß der Effekt von Vasopressin auf die Niere wie dort so auch hier von c - AMP vermittelt wird (7, 20, 34, 35, 36). Tatsächlich fand Levine an gesunden Menschen und an zwei Patienten mit Diabetes insipidus nach intravenöser Gabe von c - AMP einen antidiuretischen und die Urinosmolalität steigenden Effekt (28).

In den vorliegenden Untersuchungen fanden sich nach intravenöser Applikation von DB - c - AMP eine deutliche Reduktion des Urinflusses und ein ausgeprägter Anstieg von Urinosmolalität,

Natrium- und Kaliumkonzentration im Urin. Diese Befunde entsprechen denen am Menschen und am Kaninchen (5, 28) und sind im wesentlichen die gleichen, die mit Vasopressin an Ratte, Kaninchen und Hund gefunden worden sind (4, 5, 31).

Die Untersuchungsergebnisse hinsichtlich der Dosierung sind denen anderer Autoren vergleichbar. Die von Barraclough und Levine durchgeführten Experimente (5, 28) wurden mit etwa gleichen Dosierungen ($36 - 75 \mu\text{Mol c - AMP/kg}$ bzw. $18 - 30 \mu\text{Mol c - AMP/kg}$) wie in der vorliegenden Arbeit ($11 - 25 \mu\text{Mol DB - c - AMP/kg}$) erzielt.

Eine gute Übereinstimmung mit den genannten Autoren findet sich auch hinsichtlich der gemessenen Effekte (siehe Tabelle 14). Die größenmäßigen Unterschiede der einzelnen Effekte beruhen möglicherweise darauf, daß

1. hier c - AMP, dort das DB - c - AMP verwandt wurde,
2. eine unterschiedliche Ansprechbarkeit der jeweiligen Tierspezies möglich ist und
3. schließlich gewisse methodische Unterschiede bestehen.

Ähnliche Überlegungen gelten für die prinzipiell überall gleiche, in ihrer Ausprägung aber unterschiedliche Diureseabnahme nach Gabe von c - AMP.

Tab. 14

Aufstellung der von verschiedenen Untersuchern verwendeten Dosierung (c - AMP bzw. DB - c - AMP) und prozentualer Vergleich der jeweils gemessenen Effekte auf Diurese, Urinosmolalität, Natrium- und Kaliumkonzentration im Urin.

		Diurese	Osmolalität	Natrium	Kalium
Levine	(18 - 30 $\mu\text{Mol c - AMP/kg}$)	- 50 %	+ 120 %		
Barracrough	(36 - 75 $\mu\text{Mol c - AMP/kg}$)	- 75 %	+ 100 %	+ 80 %	
Mertine-Maldonado	(17 - 24 $\mu\text{Mol DB - c - AMP/kg}$)		+ 15 %	+ 120 %	+ 30 %
eigene Versuche	(11 - 25 $\mu\text{Mol DB - c - AMP/kg}$)	- 50 %	+ 200 %	+ 200 %	+ 300 %

Die Befunde von Alexander, nach denen ca. 5 - 50 $\mu\text{Mol c - AMP/kg}$ bei der Ratte und ca. 5 - 10 $\mu\text{Mol c - AMP/kg}$ beim Hund keinerlei antidiuretischen Effekt hatten (2), können nicht bestätigt werden. Möglicherweise beruht dies ebenfalls auf methodischen Unterschieden, z.B. einer zu geringen Dosierung. Weitere Erörterungen dazu sind nicht möglich, da sowohl nähere methodische Angaben als auch weitere Daten (z.B. Urinosmolalität und Elektrolytausscheidung) in der Publikation fehlen.

In den vorliegenden Versuchen ließ sich eine Dosis-Wirkungsbeziehung feststellen, wobei 1,1 $\mu\text{Mol DB - c - AMP}$ erste Effekte im Sinne einer Osmolalitätssteigerung im Urin und einer Zunahme der Natrium- und Kaliumkonzentration nachgewiesen wurden. In Analogie zu den Versuchen Athertons konnte mit steigenden Dosen eine weitere Verstärkung der Effekte hervorgerufen werden (4). Aus methodischen Gründen war es jedoch nicht möglich, Daten unter maximalem renalen Effekt zu gewinnen, da bei vollständiger Antidiurese keine Meßwerte zur Verfügung standen und bei zu erwartenden maximalen Nierenwirkungen andere extrarenale Effekte auftraten. Dabei ließen sich, wie auch bei den entsprechenden Versuchen Athertons (4), beträchtliche individuelle Unterschiede der Versuchstiere hinsichtlich des Ausmaßes der Reaktion auf die jeweilige Dosis feststellen (siehe auch 5, 31).

Dosisabhängige Unterschiede äußern sich vorwiegend durch die Höhe der Urinosmolalität und Natriumkonzentration und durch die Dauer der Antidiurese. Ein ähnliches Verhalten fanden Atherton et al. beim ADH (4). Dabei scheint die Osmolalität und die Natriumkonzentration ein feinerer und sich eher verändernder Parameter zu sein als die Diuresegröße (4). Die Osmolalität nimmt verhältnismäßig stärker zu als die Diurese abnimmt. Dies erklärt möglicherweise auch die zu den vorliegenden Versuchen entgegengesetzten Befunde von Abe und Gill, welche bei kontinuierlicher Infusion von $1 \mu\text{Mol DB} - c - \text{AMP/kg} \times \text{min.}$ bzw. $0,1 \mu\text{Mol DB} - c - \text{AMP/kg} \times \text{min.}$ eine Zunahme des Urinflusses fanden (1, 15). Die wirksame Konzentration des Nucleotids war offensichtlich zu niedrig, um schon eine Antidiurese hervorzurufen, hingegen war ein Einfluß auf Osmolalität und Natrium- und Kaliumexkretion bereits nachweisbar.

In eigenen Voruntersuchungen mit kontinuierlicher Infusion konnte Ähnliches festgestellt werden. Auch hier schien die Diurese eher zuzunehmen, während die Osmolalität und die Natrium- und Kaliumkonzentrationen, wenn auch nicht signifikant, anstiegen.

Der zeitliche Ablauf der verschiedenen Effekte von $c - \text{AMP}$ -Gabe (z.B. Antidiurese, Ausmaß der Osmolalitätszunahme und der Natrium- und Kaliumkonzentration im Urin) zeigt eine gute Übereinstimmung der hier mitgeteilten Ergebnisse mit

den Angaben anderer Autoren: Abe fand eine erhöhte Natrium-, Kalium- und "osmolare" Exkretion innerhalb der ersten 20 Minuten nach Injektion des Nucleotids (1), Martinez-Maldonado bereits nach 5 - 10 Minuten eine Steigerung der Urinosmolalität und der Natrium- und Kaliumkonzentration (31); Levine beobachtete die stärksten Veränderungen von Urinfluß und Osmolalität in den ersten 30 Minuten (28), Barraclough innerhalb von 20 - 40 Minuten Effekte auf Urinfluß, Osmolalität und Natriumkonzentration (5). Ein maximaler Effekt (Antidiurese, Erhöhung der Urinosmolalität und der Natrium- und Kaliumkonzentration im Urin) fand sich in den vorliegenden Experimenten bereits nach 10 - 15 Minuten. Der gleiche zeitliche Verlauf mit einem antidiuretischen Effekt wurde nach ADH-Gabe registriert, wobei nach einer Stunde die Ausgangswerte wieder erreicht wurden (4). Eine zeitliche Korrelation der c - AMP und ADH-Wirkung wurde auch von anderen Autoren nachgewiesen (5, 28, 31).

Hypothesen zum Wirkungsmechanismus

Es ist wenig wahrscheinlich, daß die durch c - AMP hervorgerufenen Effekte durch Freisetzung von endogenem ADH erfolgen (5). Bei Tieren in maximaler Wasserdiurese muß eine völlige Suppression des endogenen ADH angenommen werden und es besteht kein Hinweis auf eine physiologische Bedeutung von c - AMP als Stimulans

der Vasopressinfreisetzung. In Übereinstimmung damit konnte Levine seine Befunde an zwei Patienten mit Diabetes insipidus bestätigen (28). Daß gleiche Effekte an hydratisierten Wistar-Ratten ebenso wie an D.i.-Ratten (die ja zu keinerlei endogener ADH-Freisetzung fähig sind) nachweisbar waren, spricht ebenfalls für einen peripheren Angriffspunkt des c - AMP.

In den vorliegenden und nahezu allen anderen genannten Versuchen wurde übereinstimmend gefunden, daß die glomeruläre Filtrationsrate durch DB - c - AMP nicht herabgesetzt wird, und daß die Effekte nicht auf einer Änderung hämodynamischer Verhältnisse beruhen (1, 2, 5, 15, 28, 31). Lediglich Abe und Gill fanden nach c - AMP hämodynamische Effekte wie eine Senkung der glomerulären Filtrationsrate und des Blutdrucks und erklärten dies durch den schnellen Abbau des c - AMP im Blut und durch die starke Gefäßwirkung der dabei entstehenden Metaboliten (1, 15).

Beim ADH wie auch beim c - AMP sind zwei voneinander verschiedene Effekte nachweisbar. Einmal die Änderung der Wasserpermeabilität und andererseits die Wirkung auf die Transportcharakteristik für Natrium. Die Wirkung des ADH (in physiologischen Dosen) wird in erster Linie in einer Änderung der Wasserpermeabilität in den distalen Abschnitten der Tubuli gesehen. Gleiches, also vorwiegend eine Permeabilitätsänderung ohne wesentliche Änderung des Natriumtransportes, kann auch für die c - AMP-Wirkung angenommen werden.

Unter dieser Annahme werden z.B. von Martinez-Maldonado zwei voneinander unabhängige, von c - AMP stimulierbare Vorgänge postuliert, auf der Beobachtung beruhend, daß Vasopressin eine Natriurese ohne Reduktion des Urinflusses verursachen kann (31). Ähnliche Beobachtungen wurden an der Ratte gemacht (42).

Für die Annahme, daß der zweifachen Wirkung cyclischer Nucleotide, nämlich einmal auf den Natrium-, zum anderen auf den Wassertransport, auch jeweils charakteristische Tubulusabschnitte zuzuordnen sind (15, 31), liegend hinreichend sichere Befunde wohl noch nicht vor. Dagegen spricht einiges dafür, daß die Hauptwirkung von c - AMP (Wasser- und Natriumtransportcharakteristik betreffend) in den distalen Tubulusabschnitten und die mit dem Parathormon in Verbindung zu bringende Wirkung im proximalen Tubulus lokalisiert ist.

B) Cyclisches Guanosin - 3': 5'- monophosphat

Neben dem c - AMP ist c - GMP das einzige cyclische Nucleotid, das bisher in biologischen Flüssigkeiten (3, 17, 23, 39) und im Nierengewebe (17, 26) nachgewiesen werden konnte. Wegen der nahen chemischen Verwandtschaft zum c - AMP waren nach Injektion von c - GMP Effekte auch an der Niere zu erwarten.

Hinweise für diese Annahme fanden sich bei Bourgoignie et al. durch Untersuchungen an der isolierten Krötenblase, die in vielerlei Hinsicht als Modell für Vorgänge am distalen Tubulusepithel der Nieren angesehen werden kann; nach Zugabe von c - GMP in die Badlösung wurde eine Steigerung des KSS (als Ausdruck des Natriumnettotransports) um 28 % innerhalb von 15 Minuten registriert, ein gleichsinniges Verhalten wie beim c - AMP. Der Nettowasserfluß wurde dagegen von c - GMP nicht beeinflußt (7).

Im Gegensatz zu diesen Beobachtungen konnte Tryzna mit ähnlichen Versuchen keine Änderung des KSS und des Nettowasserflusses nach c - GMP feststellen (50).

Über mögliche renale Effekte von c - GMP in vivo geben Arbeiten von Goldberg et al. erste Hinweise. Nach Injektion von 0,1 μ Mol c - GMP in die Nierenarterie von Hunden wurde das applizierte c - GMP nahezu vollständig wieder im Urin ausgeschieden. Demnach hatte nur eine geringe Resorption oder ein langsamer biochemischer Abbau des zugeführten c - GMP stattgefunden. Dennoch scheint ein minimaler Effekt auf die Nierenfunktion vorzuliegen: die Autoren fanden eine geringgradige Zunahme des Urinvolumens in den ersten 10 Minuten nach der Injektion sowie eine ausgeprägtere Steigerung der Urinnatriumkonzentration (17).

Die eigenen Ergebnisse entsprechen im wesentlichen diesen Beobachtungen. Mit einer (höheren) Dosierung von $56,5 \mu\text{Mol c - GMP}/100 \text{ g KG}$ fand sich einmal eine Zunahme der Diurese um ca. 40 - 50 % in den ersten 10 - 15 Minuten und eine Steigerung sowohl der Osmolalität als auch der Natrium- und Kaliumkonzentration im Urin. Dieser Effekt mag verursacht sein durch eine vielfach höhere Dosierung des Nucleotids in unseren Versuchen. Gleichzeitig mit der Diuresezunahme fand sich bei konstantem Blutdruck eine Zunahme der Herzfrequenz. Ob dies ein direkter kardialer Effekt ist, kann nicht ausgeschlossen werden, scheint jedoch eher unwahrscheinlich, da an isolierten schlagenden Rattenherzzellen die Zugabe von DB - c - GMP zu einer Abnahme der Frequenzrate führte (54), und auch adrenerge Substanzen, die eine Frequenzzunahme verursachen, am Herzen eine Konzentrationsabnahme von c - GMP hervorrufen (14).

Für die Diuresezunahme kann eine hinreichend sichere Erklärung nicht gegeben werden. Das Blutdruckverhalten wurde nicht nachhaltig beeinflusst.

Unabhängig davon ist aber ein dem c - AMP ähnlicher renaler Effekt mit einer Osmolalitäts- und Natrium- und Kaliumkonzentrations-Steigerung nachweisbar; denn die entsprechenden Werte bleiben über die gesamte Versuchsdauer erhöht. Es ist wenig wahrscheinlich, daß eine Änderung

der glomerulären Filtrationsrate für diese Vorgänge verantwortlich ist, da sowohl nach DB - c - AMP, c - CMP und c - UMP keine Änderung der glomerulären Filtrationsrate festgestellt wurde und dies in Analogie auch für c - GMP angenommen werden kann.

Zusammenfassend ergibt sich aus diesen Untersuchungen, daß c - GMP den Effekt von DB - c - AMP in schwächerer Ausprägung nachahmt (Zunahme der Urinosmolalität und der Natrium- und Kaliumkonzentration). Nach diesen Befunden scheint nicht ausgeschlossen, daß c - GMP auch unter physiologischen Bedingungen die Nierenfunktion beeinflussen könnte. Ob dies über den c - AMP-Mechanismus abläuft und durch eine Konzentrationsänderung des c - AMP, z.B. durch kompetitive Hemmung der Phosphodiesterase oder durch direkte Verdrängung am c - AMP-Rezeptor zustandekommt, ist in den vorliegenden Versuchen nicht zu klären.

C) Andere cyclische Phosphate

Experimente mit den synthetischen cyclischen Nucleotiden c - CMP, c - UMP und c - IMP an der Säugetierniere in vivo liegen nicht vor. Versuche an Amphibienmembranen zeigen, daß weder c - CMP noch c - UMP den KSS oder den Nettowasserfluß beeinflussen (7, 50). Dies stimmt insofern mit den vorliegenden Versuchen überein, als sich auch hier keine wesentliche Änderung des Urinflusses nach Injektion der genannten cyclischen Nucleotide

feststellen ließ. Hingegen zeigte sich bei allen untersuchten Substanzen eine geringfügige Zunahme der Natrium- und Kaliumkonzentration im Urin. Dies könnte auf einem direkten Effekt auf die Niere beruhen.

Bei der relativ geringen und kurzfristigen Änderung der genannten Parameter und bei der nahen chemischen Verwandtschaft dieser Substanzen zu den beiden natürlich vorkommenden Substanzen c - AMP und c - GMP ist möglicherweise entweder eine Hemmung der c - AMP-, evtl. auch c - GMP-abbauenden Fermente oder eine direkte Substitution am Rezeptor für die Effekte verantwortlich.

Eine Änderung der glomerulären Filtrationsrate nach Gabe dieser cyclischen Nucleotide konnte ausgeschlossen werden; auch Blutdruck und Herzfrequenz wurden nicht signifikant verändert.

Auffallend ist die recht deutliche und über die gesamte Versuchsperiode andauernde erhöhte Kaliumkonzentration im Urin nach c - CMP, die keine Beziehung zur Natriumkonzentration zeigt. Dieser Befund ließ sich auch bei D.i.-Ratten nachweisen.

Die Messung der Blutzuckerwerte ergab, daß c - UMP und c - GMP den Blutzuckerspiegel nur unwesentlich verändern; ein Befund, der mit den Daten Levines an der isolierten Rattenleber übereinstimmt (29).

VI. Zusammenfassung

Die Schlüsselstellung des c - AMP als sogenannter "second messenger" (Sutherland) gilt als sicher. Von allen dem c - AMP chemisch ähnlichen Substanzen ist bisher nur das c - GMP in biologischen Flüssigkeiten und Geweben nachgewiesen worden. Der Einfluß von c - GMP auf verschiedene Stoffwechselvorgänge ist wahrscheinlich, die Mechanismen im einzelnen noch ungeklärt. Möglicherweise ist es auch als "second messenger" in die Vermittlung hormonaler Wirkungen eingeschaltet.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Effekte von intravenös injiziertem DB - c - AMP und anderen cyclischen Nucleotiden auf die Nierenfunktion von Wistar-Ratten und D.i.-Ratten unter den Bedingungen der Wasserdiurese untersucht. Es wurden Veränderungen von Diurese, Urinosmolarität, Natrium- und Kaliumkonzentration im Urin bei gleichzeitiger Blutdruckkontrolle gemessen. Dabei interessierte besonders die Frage, ob andere cyclische Nucleotide dem c - AMP ähnliche Wirkungen auf die Nierenfunktion haben und ob die gemessenen Veränderungen primärer Art sind. Folgende Befunde wurden erhoben:

A. Wistar-Ratten

1. DB - c - AMP bewirkte eine ausgeprägte Anti-Diurese mit Anstieg der Urinosmolalität und der Natrium- und Kaliumkonzentration im Urin. Der maximale Effekt wurde durchschnittlich bereits nach 10 - 15 Minuten erreicht; 40 - 50 Minuten nach Applikation waren die Ausgangswerte wieder erreicht. Eine Dosis-Wirkungs-Beziehung wurde aufgestellt.
2. C - GMP verursachte eine kurzfristige Diuresezunahme bei gleichzeitiger Erhöhung der Herzfrequenz, begleitet von einem langdauernden Anstieg der Urinosmolalität mit entsprechender Zunahme der Natrium- und Kaliumkonzentration im Urin.
3. C - UMP, c - CMP und c - IMP steigerten die Urinosmolalität und die Natrium- und Kaliumkonzentration im Urin. Die Diurese wurde nicht signifikant beeinflusst.

B. D.i.-Ratten

1. DB - c - AMP zeigte wie bei den Wistar-Ratten eine Diuresehemmung und einen Anstieg der Urinosmolalität mit entsprechender Zunahme der Natrium- und Kaliumkonzentration.
2. C - CMP verursachte eine flüchtige Zunahme der Diurese. Osmolalitätsanstieg und Zunahme der

Natrium- und Kaliumkonzentration entsprachen den Befunden bei Wistar-Ratten.

Die Bestimmung der Kreislaufparameter Blutdruck und Herzfrequenz ergab bei den verwendeten Dosen außer einer kurzfristigen Herzfrequenzzunahme nach c - GMP keine nennenswerte Änderung dieser Parameter.

Die getesteten Substanzen zeigten keinen Einfluß auf die glomeruläre Filtrationsrate.

Daraus ließ sich ableiten, daß die gemessenen Effekte Ausdruck eines direkten Angriffes an den harnkonzentrierenden Strukturen sind.

VII. Literaturverzeichnis

- 1) Abe, Y., Morimoto, S., Yamamoto, K., Ueda, J.: Effects of dibutyryl cyclic 3': 5'- adenosine monophosphate on the renal function.
Jap. J. Pharmacol. 18, 271 (1968)
- 2) Alexander, C.S.: The effect of 3': 5'- cyclic AMP and other nucleotides on urine flow and hemodynamics in the rat.
J. Clin. Invest. 44, 1025 (1965)
- 3) Ashman, D.F., Lipton, R., Melicow, M.M., Price, T.D.: Isolation of adenosine 3': 5'- monophosphate and guanosine 3': 5'- monophosphate from rat urine.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 11, 330 (1963)
- 4) Atherton, J.C., Hai, M.A., Thomas, S.: Acute effects of lysine vasopressin injection (single and continuous) on urinary composition in the conscious water diuretic rat.
Pflügers Arch. 310, 281 (1969)
- 5) Barraclough, M.A., Jones, N.F.: Effects of adenosine 3': 5'- monophosphate on renal function in the rabbit.
Brit. J. Pharmacol. 40, 334 (1970)
- 6) Böhme, E.: Guanyl - Cyclase. Bildung von Guanosin - 3': 5'- monophosphat in Niere und anderen Geweben der Ratte.
Eur. J. Biochem. 14, 422 (1970)
- 7) Bourgoigne, J., Guggenheim, S., Kipnis, D.M., Klahr, S.: Cyclic guanosine monophosphate: effects on short - circuit current and water permeability.
Science 165, 1360 (1969)

- 8) Broadus, A.E., Kaminsky, N.I., Northcutt, R.C., Hardman, J.G., Sutherland, E., Liddle, G.W.: Effects of glucagon on adenosine 3': 5'- monophosphate and guanosine 3': 5'- monophosphate in human plasma and urine.
J. Clin. Invest. 49, 2237 (1970)
- 9) Bron, T., Rous, S.: Comparaison de quelques effets du 3': 5'- GMP cyclique et du 3': 5'- AMP cyclique sur le métabolisme glucolipidique de la souris vivante.
Biochim. Biophys. Acta 237, 156 (1971)
- 10) Cehovic, G., Posternak, T., Charollais, E.: A study of the biological activity and resistance to phosphodiesterase of some derivatives and analogues of cyclic AMP
Adv. Cyclic Nucl. Res. 1, 521 (1972)
- 11) Conn, H.O., Kipnis, D.M.: The effect of various 3': 5'- cyclic nucleotides on gluconeogenesis and glycogenolysis in the perfused rat liver.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 37, 319 (1969)
- 12) Dousa, T.P., Walter, R., Schwartz, I.L., Sands, H., Hechter, O.: Role of cyclic AMP in the action of neurohypophyseal hormones on kidney.
Adv. Cyclic Nucl. Res. 1, 121 (1972)
- 13) Ferguson, D.R., Price, R.H.: The actions of cyclic nucleotides on the toad bladder.
Adv. Cyclic Nucl. Res. 1, 113 (1972)
- 14) George, W.J., Polson, J.B., O'Toole, A.G., Goldberg, N.D.: Elevation of guanosine 3': 5'- cyclic phosphate in rat heart after perfusion with acetylcholine.
Proc. Nat. Acad. Sci. 66, 398 (1970)

- 15) Gill, J.R., Casper, A.G.T.: Renal effects of adenosine 3': 5'-cyclic monophosphate and dibutyryl adenosine 3': 5'-cyclic monophosphate.
J. Clin. Invest. 50, 1231 (1971)
- 16) Glinsman, W.H., Hern, E.P., Linarelli, L.G., Farese, R.V.: Similarities between effects of adenosine 3': 5'- monophosphate and guanosine 3': 5'- monophosphate on liver and adrenal metabolism.
Endocrinology 85, 711 (1969)
- 17) Goldberg, N.D., Dietz, S.B., O'Toole, A.G.: Cyclic guanosine 3': 5'- monophosphate in mammalian tissues and urine.
J. Biol. Chem. 244, 4458 (1969)
- 18) Grantham, J.J., Burg, M.B.: Effect of vasopressin and cyclic AMP on permeability of isolated collecting tubules.
Am. J. Physiol. 211, 255 (1966)
- 19) Grantham, J.J., Orloff, J.: Effect of prostaglandin E_1 on the permeability response of the isolated collecting tubule to vasopressin, adenosine 3': 5'- monophosphate, and theophylline.
J. Clin. Invest. 47, 1154 (1968)
- 20) Handler, J.S., Butcher, R.W., Sutherland, E.W., Orloff, J.: The effect of vasopressin and of theophyllin on the concentration of adenosine 3': 5'- phosphate in the urinary bladder of the toad.
J. Biol. Chem. 240, 4524 (1965)
- 21) Hardman, J.G., Sutherland, E.W.: A cyclic 3': 5'- nucleotide phosphodiesterase from heart with specificity for uridine 3': 5'- phosphate.
J. Biol. Chem. 240, 3704 (1965)

- 22) Hardman, J.G., Sutherland, E.W.: Guanylyl cyclase, an enzyme catalyzing the formation of guanosine 3': 5'- monophosphate from guanosine triphosphate.
J. Biol. Chem. 244, 6363 (1969)
- 23) Hardman, J.G., Davis, J.W., Sutherland, E.W.: Effects of some hormonal and other factors on the excretion of guanosine 3': 5'- monophosphate and adenosine 3': 5'- monophosphate in rat urine.
J. Biol. Chem. 244, 6354 (1969)
- 24) Hardman, J.G., Robison, G.A., Sutherland, E.W.: Cyclic nucleotides.
Ann. Rev. Physiol. 33, 311 (1971)
- 25) Imura, H., Matsukura, S., Matsuyama, H., Setsuda, T., Miyake, T.: Adrenal steroidogenic effect of adenosine 3': 5'- monophosphate and its derivatives in vitro.
Endocrinology 76, 933 (1965)
- 26) Ishikawa, E., Ishikawa, S., Davis, J.W., Sutherland, E.W.: Determination of guanosine 3': 5'- monophosphate in tissues and of guanylyl cyclase in rat intestine.
J. Biol. Chem. 244, 6371 (1969)
- 27) Kitabchi, A.E., Solomon, S.S., Brush, J.S.: The insulin - like activity of cyclic nucleotides and their inhibition by caffeine on the isolated fat cells.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 39, 1065 (1970)
- 28) Levine, R.A.: Antidiuretic response to exogenous adenosine 3': 5'- monophosphate in man.
Clin. Sci. 34, 252 (1968)

- 29) Levine, R.A., Washington, A.: Glycogenolytic activity of cyclic 3': 5'- monophosphates in perfused rat liver.
Endocrinology 87, 377 (1970)
- 30) Lipkin, D., Cook, W.H., Markham, R.: Adenosine 3': 5'- phosphoric acid: a proof of structure.
J. Am. Chem. Soc. 81, 6198 (1959)
- 31) Martinez - Maldonado, M., Eknoycu, G., Suki, W.N.: Natriuretic effects of vasopressin and cyclic AMP: possible site of action in the nephron.
Am. J. Physiol. 220, 2013 (1971)
- 32) Murad, F., Pak, C.Y.: Urinary excretion of adenosine 3': 5'- monophosphate and guanosine 3': 5'- monophosphate.
New Engl. J. Med. 286, 1328 (1972)
- 33) Nair, K.G.: Purification and properties of 3': 5'- cyclic PDE from dog heart.
Biochemistry 5, 150 (1966)
- 34) Orloff, J., Handler, J.S.: Vasopressin - like effects of adenosine 3': 5'- phosphate (cyclic 3': 5'- AMP) and theophylline in the toad bladder.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 5, 63 (1961)
- 35) Orloff, J., Handler, J.S.: The similarity of effects of vasopressin, adenosine 3': 5'- phosphate (cyclic AMP) and theophylline on the toad bladder.
J. Clin. Invest. 41, 702 (1962)
- 36) Orloff, J., Handler, J.S.: The role of adenosine 3': 5'- phosphate in the action of antidiuretic hormone.
Am. J. Med. 42, 757 (1967)

- 37) Pagliara, A.S., Goodman, A.D.: Effect of 3': 5'- GMP and 3': 5'- IMP on production of glucose and ammonia by renal cortex. Am. J. Physiol. 218, 1301 (1970)
- 38) Posternak, Th., Sutherland, E.W., Henion, W.F., Derivatives of cyclic 3': 5'- adenosine monophosphate. Biochim. Biophys. Acta 65, 558 (1962)
- 39) Price, T.D., Ashman, D.F., Melicow, M.M.: Organophosphates of urine, including adenosine 3': 5'- monophosphate and guanosine 3': 5'- monophosphate. Biochim. Biophys. Acta 138, 452 (1967)
- 40) Rall, T.W., Sutherland, E.W.: Formation of a cyclic adenine ribonucleotide by tissue particles. J. Biol. Chem. 232, 1065 (1958)
- 41) Robison, G.A., Butcher, R.W., Sutherland, E.W.: Cyclic AMP. Ann. Rev. Biochem. 37, 149 (1968)
- 42) Sawyer, W.H., Posterior pituitary extracts and excretion of electrolytes by the rat. Am. J. Physiol. 169, 583 (1952)
- 43) Schultz, G.: Cyclische Nucleotide als intracelluläre Überträgerstoffe bei Hormonwirkungen. Klin. Wschr. 49, 1049 (1971)
- 44) Schultz, G., Jakobs, K.H., Böhme, E., Schultz, K.: Einfluß verschiedener Hormone auf die Bildung von Adenosin - 3': 5'- monophosphat und Guanosin - 3': 5'- monophosphat durch partikuläre Präparationen aus der Rattenniere. Eur. J. Biochem. 24, 520 (1972)

- 45) Sutherland, E.W., Rall, T.W.: Fractionation and characterization of a cyclic adenine ribonucleotide formed by tissue particles.
J. Biol. Chem. 232, 1077 (1958)
- 46) Sutherland, E.W., Rall, T.W.: Relation of adenosine 3': 5'-phosphate and phosphorylase to the actions of catecholamines and other hormones.
Pharmacol. Rev. 12, 265 (1960)
- 47) Sutherland, E.W., Robison, G.A.: The role of cyclic 3': 5'- AMP in responses to catecholamines and other hormones.
Pharmacol. Rev. 18, 145 (1966)
- 48) Sutherland, E.W., Butcher, R.W., Robison, G.A., Hardman, J.G.: The role of adenosine 3': 5'- monophosphate in hormone action.
18. Mosbacher Colloquium 1967
- 49) Sutherland, E.W., Robison, G.A., Butcher, R.W.: Some aspects of the biological role of adenosine 3': 5'- monophosphate (cyclic AMP).
Circulation 37, 279 (1968)
- 50) Tryzna, G.: Der Einfluß cyclischer Nucleotide auf die elektrische Aktivität und den transepithelialen hydroosmotischen Nettowasserfluß isolierter Amphibienmembranen.
Inaugural - Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln, 1973
- 51) Vapaatalo, H., Erbler, H., Westermann, E.: Action of various cyclic nucleotides on the synthesis of corticosterone and aldosterone in vitro.
Adv. Cycl. Nucl. Res. 1, 589 (1972)

- 52) White, A.A., Aurbach, G.D.: Detection of guanyl cyclase in mammalian tissues.
Biochim. Biophys. Acta 191, 686 (1969)
- 53) Whitfield, J.F., MacManus, J.P., Franks, D.J., Gillan, D.J., Youdale, T.: The possible mediation by cyclic AMP of the stimulation of thymocyte proliferation by cyclic GMP.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 137, 453 (1971)
- 54) Wollenberger, A., Krause, E.G., Halle, W.: Effect of dibutyryl cyclic GMP on cultured beating rat heart cells.
Adv. Cycl. Nucl. Res. 1, 301 (1972)

Herrn Dr. med. E. Uhlich möchte ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas sowie für seine stete Hilfsbereitschaft und tatkräftige Unterstützung bei der Ausarbeitung dieser Dissertation danken.

L e b e n s l a u f

Am 29. Juni 1944 wurde ich als Sohn des praktischen Arztes Dr. med. Willi Weppler und seiner Ehefrau Marianne, geb. Rixen, in Leverkusen geboren.

Von 1950 bis 1954 besuchte ich die Katholische Volksschule in Leverkusen-Manfort und anschließend das Freiherr-von-Stein-Gymnasium in Leverkusen. Im März 1964 legte ich die Reifeprüfung ab.

Von 1964 bis 1965 leistete ich die vorgeschriebene einjährige Wehrpflicht ab.

Im Sommersemester 1965 begann ich das Studium der Human-Medizin an der Universität Köln. Im Juli 1966 legte ich die naturwissenschaftliche und im Juli 1968 die ärztliche Vorprüfung ab.

Während des Wintersemesters 1968/69 und des Sommersemesters 1969 studierte ich an der Universität Wien. Die letzten Studiensemester absolvierte ich in Köln; hier bestand ich im Dezember 1971 die ärztliche Prüfung.

1972 begann ich meine Medizinalassistentenzeit an der Medizinischen Klinik des Diakonissenkrankenhauses in Stuttgart. Im September 1972 wechselte ich auf die Chirurgische Abteilung des Paracelsus-Krankenhauses Ruit. Im Mai 1973 erhielt ich die Approbation als Arzt. Seit Juni 1973 bin ich als Assistenzarzt an der Chirurgischen Abteilung des Paracelsus-Krankenhauses Ruit beschäftigt.

